

**Synthese des
3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins
und seine Oxydation**

Kurt Heinz Köhrmann

1960

Synthese des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins
und seine Oxydation

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

von

Kurt Heinz Köhrmann

aus

Wuppertal-Elberfeld

1960



1. Referent: Professor Dr. A. Butenandt

2. Referent: Professor Dr. R. Huisgen

Tag der mündlichen Prüfung: **21. DEZ. 1960**

Druck: Steinbauer u. Hagemann, München 2

Der vorliegende Aufsatz wurde im Max-Planck-Institut für Wissenschaftsgeschichte in München unter Leitung von Herrn Professor Dr. Adolf Harnack im Jahr 1901 und 1902 im Juni 1902 veröffentlicht.

Herrn Professor Dr. Adolf Harnack, dem Verfasser dieses Aufsatzes, ist die Herausgabe dieses Aufsatzes zu danken.

Dieser Aufsatz ist, wie ich schon oben erwähnt habe, eine Fortsetzung des Aufsatzes „Die Rolle der Kirche in der Geschichte“, der im Jahr 1901 im „Monatsschrift für Geschichte und Wissenschaftsgeschichte“ erschienen ist.

Dem Andenken meines Vaters

Der Verfasser dieses Aufsatzes ist der Sohn des Herrn Professor Dr. Adolf Harnack, der im Jahr 1901 im „Monatsschrift für Geschichte und Wissenschaftsgeschichte“ erschienen ist.

Die vorliegende Arbeit wurde im Max-Planck-Institut für Biochemie in München unter Leitung von Herrn Professor Dr. Adolf Butenandt in der Zeit von Mai 1958 bis Juni 1960 durchgeführt.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. A. Butenandt, danke ich sehr herzlich für die wohlwollende Unterstützung, die er dieser Arbeit zuteil werden liess.

Herrn Dozent Dr. E. Biekert danke ich sehr für die Ratschläge und die positive Kritik, mit denen er die Arbeit gefördert hat, und für seine Hilfe bei der Diskussion der IR-Spektren.

Herrn Professor Dr. H. Dannenberg danke ich für seine freundliche Hilfe bei der Diskussion der UV-Spektren.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	
Ommochrome	1
Reaktionen der o-Aminophenole	4
Phenoxazonfarbstoffe in der Natur	10
Zielsetzung der Arbeit	11
Allgemeiner Teil	
1. Darstellung der 3-Hydroxy-5-methyl-benzoesäure	13
2. Malonestersynthese des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons	15
3. Nitrierung des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons	16
a) mit rauchender Salpetersäure in absolutem Äther	16
b) mit rauchender Salpetersäure in Acetanhydrid	17
c) mit rauchender Salpetersäure in Eisessig und Acetanhydrid	20
α) Abhängigkeit der Nitrierung von der Dielektrizitätskonstanten des Lösungsmittels und der Temperatur	20
β) Dinitro-Derivate des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons	21
γ) Darstellung von 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon als bevorzugtes Isomeres	21
δ) Säulenchromatographische Trennung der drei isomeren Mononitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenone	22
4. Spektren der Nitroderivate des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons	23
a) UV-Spektren	
α) Mononitroverbindungen	23
β) Dinitroverbindungen	30
γ) Trinitroverbindung	31

b) IR-Spektren	
α) Mononitroverbindungen	32
β) Dinitroverbindungen	34
γ) Trinitroverbindung	34
5. Darstellung der 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacryl- säure	37
a) Kondensation in Anlehnung an die Hydroxy-kynurenin- Synthese	37
b) Variation von Temperatur und Zeit	39
c) Variation des Katalysators	39
d) Perkin-analoge Kondensation	40
6. Darstellung des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylalanins und seine Hydrierung zu 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin . . .	44
a) Ammoniakaddition	44
b) Katalytische Hydrierung	45
c) Kondensation mit Oxalessigsäurediäthylester	48
7. Oxydation des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins	50
a) Oxydationsversuche in wässrigen Medien	50
b) Oxydationsversuche in absolutem Alkohol	51
α) Vergleich der Oxydationswirkungen von Bleidioxid und Quecksilberoxyd bei verschiedenen Temperaturen	51
β) Chromatographische Trennung und UV-Spektren der Fraktionen	53
c) Oxydationen in Tetrahydrofuran	55
α) Oxydation mit Bleidioxid	55
β) Oxydation mit Sauerstoff	56
γ) Oxydation mit Bleidioxid bei Zimmertemperatur	56
Zusammenfassung	59
Experimenteller Teil	61
Lebenslauf	

Einleitung

Im Jahre 1932 gelang E. Caspari ¹ der Nachweis, dass ein Gen die Ausprägung eines Merkmals über einen diffusiblen Stoff ausübt: Durch Transplantation von Organen der schwarzäugigen Mehlmotte *Ephestia* auf eine reinrassig rotäugige Mutante wurde eine stärkere Pigmentierung erreicht. Das implantierte Organ gibt also einen Stoff ab, der dieselbe Merkmalsausbildung bewirkt, wie sie das nicht mutierte Gen der schwarzäugigen Wildform zustande bringt.

Dieses Ergebnis bezeichnet den Beginn neuerer Bemühungen um die Antwort auf die zentrale Frage der Genetik:

Wie werden die Nachkommen den Eltern ähnlich, wie bewirken die im Genom vereinigten Erbanlagen die Ausprägung phänotypischer Merkmale.

Durch die Zusammenarbeit von Biologen und Chemikern ist es in den letzten 25 Jahren gelungen, wesentliche Grundlagen für die Beantwortung dieser Frage zu gewinnen. Vor allem die Arbeitskreise um A. Kühn, A. Butenandt und G. W. Beadle erarbeiteten die Erkenntnis, dass Gene Fermente bereitstellen, welche spezifische chemische Reaktionen in der Zelle ablaufen lassen und so zu Stoffwechselendprodukten führen, die unter günstigen Umständen direkt als Merkmale des Phänotyp beobachtet werden können ². An den Ommochromen, Farbstoffen in den Ommatidien der Augen verschiedener Insekten, gelang A. Kühn und A. Butenandt der erste Einblick in den Ablauf einer "Genwirkkette" im tierischen Organismus ^{3,4}.

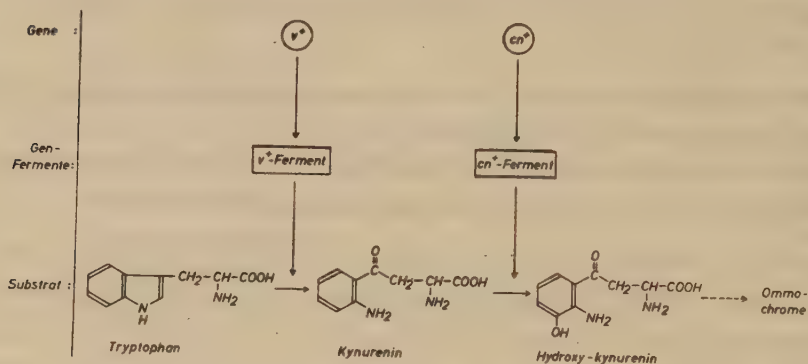
1) Roux' Archiv 130, 353 (1933)

2) Zusammenfassung P. Karlson, Erg. Enzymforsch. XIII, 85 (Leipzig 1954)

3) A. Kühn, Nachr. Akad. Wiss. Göttingen, mathemat. phys. Klasse 1941, 23
Nat. Wiss. 43, 25 (1956)

4) A. Butenandt, Nat. Wiss. 40, 91 (1953)
Angew. Chem. 69, 16 (1957)

Ommochrome werden bei der Mehlmotte *Ephestia Kühniella* und bei der Taufliege *Drosophila melanogaster* nur bei Anwesenheit bestimmter Erbfaktoren im Genom ausgebildet. Ausgangsstoff ist die Aminosäure Tryptophan. Spezifische Fermente, die nur in Anwesenheit bestimmter Gene wirksam werden, katalysieren die Synthese über Kynurenin und Hydroxykynurenin zum Pigment. Bei Mutanten ohne die betreffenden Gene ist die Ausfärbung geschwächt oder unterbleibt ganz.



Schema der Genwirkkette

Die Ommochrom-Pigmente sind chemisch keineswegs einheitlich. Durch Extraktion von nativem Material - z. B. aus dem Schlupfsekret des Kleinen Fuchses *Vanessa urticae* - gewinnt man eine grössere Anzahl verschiedener, chemisch nahe verwandter Farbstoffe. Gemeinsam ist ihnen die Löslichkeit in Ameisensäure und in verdünntem Alkali; manche zeigen ein mit Farbwechsel (meist rot-gelb) verbundenes Redoxverhalten.

E. Becker⁵ unterteilte sie nach Gruppeneigenschaften in die höhermolekularen, nicht dialysablen, alkalistabilen Ommine und die niedermolekularen, dialysablen, alkalilabilen Ommatine.

5) Biol. Zbl. 59, 597 (1939)

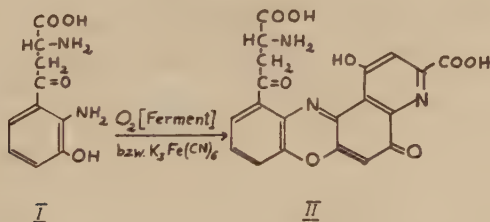
Nat. Wiss. 29, 237 (1941)

Z. Vererbungslehre 80, 157 (1942)

Ausser in den Augen finden sich Ommochrome bei Insekten als Haut-, Flügel- und Exkret-Pigmente. Darüberhinaus wurden sie in Augen und Haut vieler Arthropoden und Kephelopoden nachgewiesen⁶.

Die Untersuchung der Ommochrome wird durch ihre extreme Schwerlöslichkeit in allen neutralen Lösungsmitteln kompliziert. Die Aufklärung von Ommochromstrukturen durch A. Butenandt und Mitarbeiter⁴ ging deshalb nicht nur den üblichen Weg über Isolierung und Reindarstellung chemischer Individuen aus natürlichem Material, sondern machte die genetische Erkenntnis, dass Hydroxykynurenin als Chromogen fungiert, zum Angelpunkt der Untersuchungen.

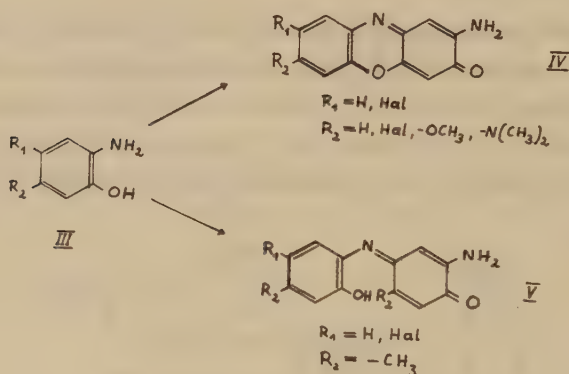
Durch Abwandlungen dieses Stoffes unter zellähnlichen und zelleigenen Bedingungen, denen zahlreiche Modellversuche vorausgegangen waren, kam man zu dem Ergebnis, dass einfache Ommatine durch oxydative Kondensation von Hydroxykynurenin (I) entstehen. So konnte die Struktur des Xanthommatins (II) aufgeklärt und durch Synthese gesichert werden⁷⁻⁹.



-
- 6) A. Butenandt, E. Biekert, B. Linzen
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 313, 251 (1958)
 - 7) A. Butenandt, U. Schiedt, E. Biekert, P. Kornmann,
Liebigs Ann. Chem. 586, 217, 229 (1954)
 - 8) A. Butenandt, U. Schiedt, E. Biekert,
Liebigs Ann. Chem. 588, 106 (1954)
 - 9) A. Butenandt, U. Schiedt, E. Biekert, R.J. Cromartie,
Liebigs Ann. Chem. 590, 75 (1954)

Die Aufklärung von Ommochromstrukturen, ausgehend von Hydroxykynurenin als Chromogen, erfordert das Studium aller Reaktionsmöglichkeiten dieser Substanz und dann die Auswahl derjenigen, die unter zellulären Bedingungen möglich erscheinen.

Hydroxykynurenin ist ein o-Aminophenol. Nach Arbeiten von K. v. Auwers¹⁰ und nach älteren von O. Fischer, E. Diepolder und F. Kehrmann¹¹ kondensieren o-Aminophenole (III) in alkalischem Milieu bei Sauerstoffzutritt je nach Art und Stellung der Substituenten am aromatischen Ring entweder zu Phenoxazonen (IV) oder zu Phenylchinoniminen (V).

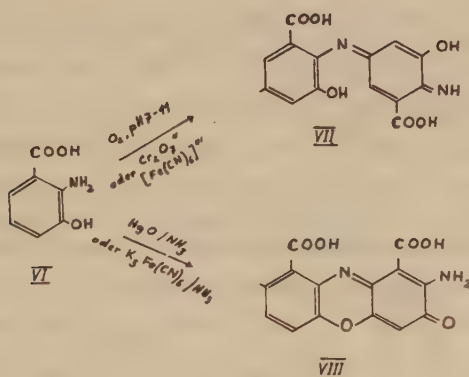


Aus der 5-Stellung werden Halogen, Methoxy- und Dimethyl-amino-Gruppen eliminiert, es erfolgt Ringschluss zum Phenoxazon. Methylgruppen jedoch verhindern den Ringschluss. Es entsteht ein Phenylchinonimin.

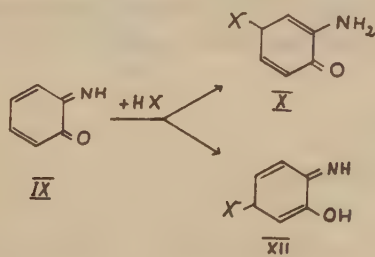
- 10) Chem. Ber. 54, 1291 (1921)
Fortschr. Chem. Phys. 18, Heft 2, 1
C. 1924, II 2265
- 11) O. Fischer, E. Hepp, Chem. Ber. 23, 2787 (1890)
O. Fischer, O. Jonas, Chem. Ber. 27, 2782 (1894)
E. Diepolder, Chem. Ber. 35, 2816 (1902)
F. Kehrmann, Chem. Ber. 39, 134 (1906)

Aber auch ohne hindernde Substituenten werden in Abhängigkeit vom Oxydationsmittel und vom pH-Wert der Lösung Phenylchinonimine gebildet.

A. Butenandt, J. Keck und G. Neubert¹² oxydierten 3-Hydroxyanthranilsäure (VI) unter verschiedenen Bedingungen: Durch Luftoxydation in Glycinpufferlösung von pH 7-11 entsteht ein rotvioletter Phenylchinondiiminfarbstoff (VII), desgleichen bei Einwirkung von Dichromat oder Kaliumhexacyanoferrat in saurer Lösung. Dagegen bildet sich mit Quecksilberoxyd in schwach ammoniakalischer Lösung ein gelbes Phenoxazonderivat (VIII).

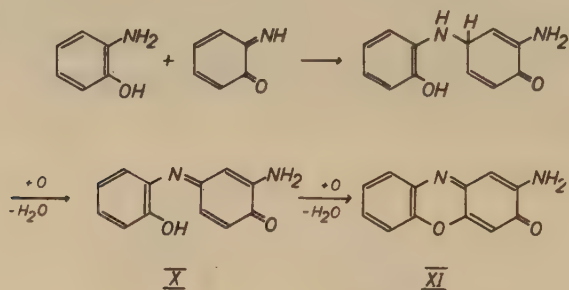


Der Mechanismus der Phenylchinonimin-Bildung ist die 1.4-Addition eines o-Aminophenolmoleküls als polarem Addenden H-X an ein Chinonimin (IX), das durch Oxydation entstand.

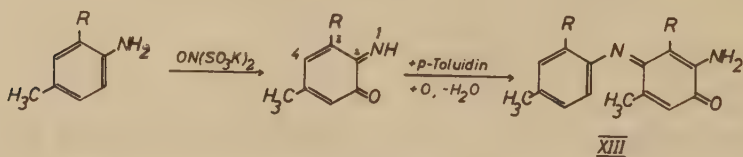


12) Liebigs Ann. Chem. 602, 61 (1957)

Nach K. v. Auwers¹⁰ findet in alkalischem Medium die Addition an das konjugierte System $\text{H}-\text{N}=\text{C}=\text{C}=\text{C}$ statt (IX, X). In Abwesenheit hindernder Substituenten schreitet die Reaktion zum Phenoxazon (XI) fort, möglicherweise als 1.4-Addition an das konjugierte System $\text{O}=\text{C}-\text{C}=\text{C}$ (analog IX, XII; vgl. S. 4).



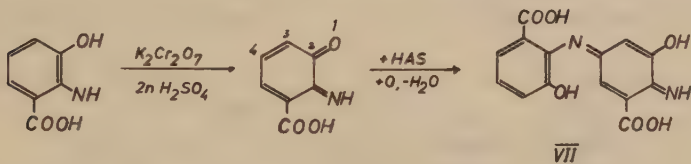
Bewiesen wurde die 1.4-Addition an $\text{H}-\text{N}=\text{C}=\text{C}=\text{C}$ durch L. Horner und K. Sturm¹³ im Falle des p-Toluidins ($\text{R}=\text{H}$) (XIII):



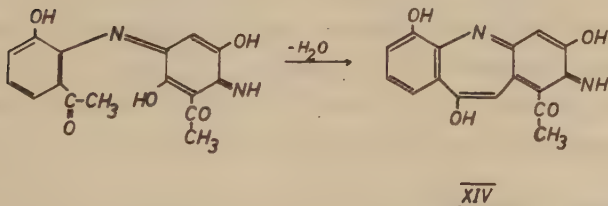
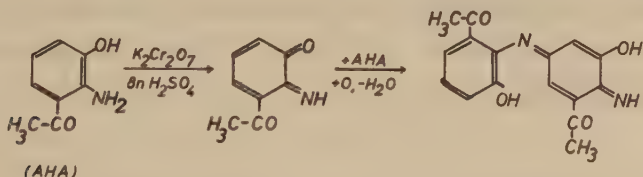
Für 1.3.4-Xylidin ($\text{R}=\text{CH}_3$) wurde der gleiche Reaktionsverlauf durch Vergleich der UV-Spektren wahrscheinlich gemacht.

13) Chem. Ber. 88, 329 (1955)

Als zweite Möglichkeit der Phenylchinoniminbildung bietet sich die 1.4-Addition an das $O=C-C=C$ -System an (IX, XII). Sie führt im Falle der Hydroxyanthranilsäure (HAS) zu dem Phenylchinondiimin (VII)¹². Die Konstitution dieser Verbindung wurde u. a. durch das IR-Spektrum des O-Monoacetats¹²

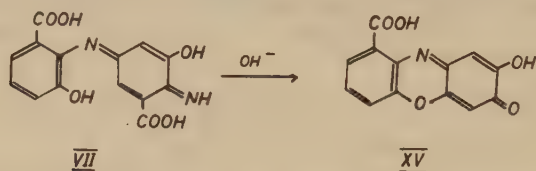


wahrscheinlich gemacht sowie durch die Analogie des unter gleichen Bedingungen aus 2-Amino-3-hydroxy-acetophenon (AHA) entstehenden 1-Acetyl-3.6.10-trihydroxy-5-dibenz-(b,f)-azepinchinonimins-(2.5) (XIV), dessen p-Chinondiimin-Struktur u. a. durch das spektrale Verhalten belegt wird¹⁴.

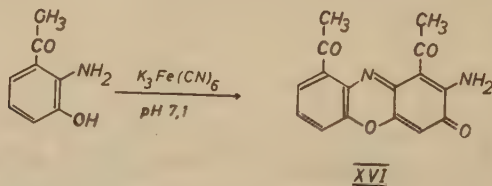


14) A. Butenandt, E. Biekert, G. Neubert, Liebigs Ann.Chem. 603, 202 (1957)

Merkwürdigerweise schreitet beim 3-Carboxy-5-hydroxy-benzochinondiimin-(1.4)-2-hydroxy-6-carboxy-anil (VII) die Reaktion unter den angewandten Bedingungen nicht zum Phenoxazon fort. Das geschieht erst beim längeren Stehen der Verbindung in alkalischer Lösung, wobei unter Decarboxylierung, Oxydation und hydrolytischer Desaminierung das 3-Hydroxy-5-carboxy-phenoxazon-(2) (XV) gebildet wird.

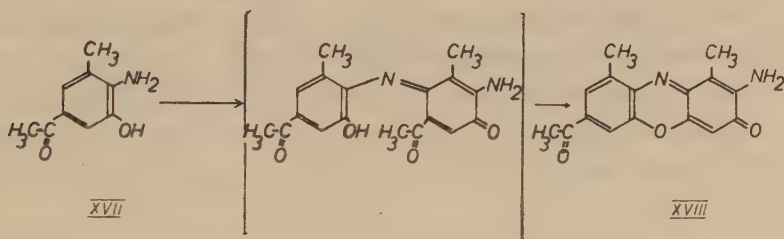


Ein weiteres Beispiel für Phenoxazonbildung aus Aminophenolen durch primäre 1.4-Addition an das H-N=C-C=C-System ist nach A. Butenandt, U. Schiedt und E. Biekert⁸ die Ferricyanid-Oxydation von 2-Amino-3-hydroxy-acetophenon in neutralem Puffer zu 3-Amino-4.5-diacetylphenoxazon-(2) (XVI):



Mit Quecksilberoxyd in Ammoniak wurde schon früher von A. Butenandt und J. Keck die gleiche Verbindung erhalten.

Schliesslich wurde in letzter Zeit gezeigt^{15,16}, dass zwei Moleküle 3-Hydroxy-4-amino-5-methyl-acetophenon (XVII) in Phosphatpuffer bei pH 7.1 unter Abspalten einer Acetylgruppe in 3-Amino-4.5-dimethyl-7-acetyl-phenoxazon-(2) (XVIII) übergehen. Zu den von K. v. Auwers genannten, aus der 5-Stellung abspaltbaren Halogen-, Methoxy- und Dimethylamino-Substituenten (S. 4) tritt also noch die Acetylgruppe.



Nach diesen Befunden entstehen aus o-Aminophenolen durch oxydative Kondensation

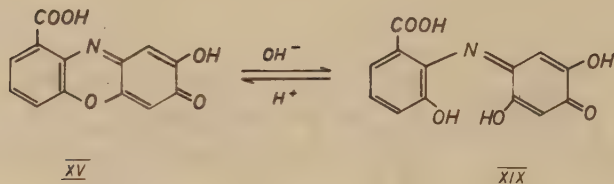
1. Phenylchinonimine durch 1.4-Addition an das stickstoffkonjugierte System (K.v. Auwers, L. Horner) Typ (V),
2. Phenylchinondiimine durch 1.4-Addition an das sauerstoffkonjugierte System (A. Butenandt und Mitarbeiter) Typ (VII),
3. Phenoxazone durch 1.4-Addition primär an das stickstoffkonjugierte System (K.v. Auwers, A. Butenandt und Mitarbeiter), sekundär an das sauerstoffkonjugierte System. Danach kann die Phenoxazonbildung Typ (VIII) als Kombination beider 1.4-Additionen aufgefasst werden (vgl. S. 5).

15) M. Däuble, Dissertation Tübingen 1957

16) K.H. Köhrmann, Diplomarbeit Tübingen 1958

A. Butenandt, E. Biekert, M. Däuble, K.H. Köhrmann,
Chem. Ber. 92, 2172 (1959)

Phenylchinonimine als Zwischenprodukte dieser Phenoxazonbildung sind wohl anzunehmen, bisher aber unseres Wissens nicht isoliert worden. Für ihr Auftreten spricht der reversible, pH-abhängige Übergang des Phenoxazonsystems (XV) in das Phenylchinoniminsystem (XIX)¹², der für die Alkalilabilität der Ommatine von Bedeutung ist:



Dieser Übergang lässt sich an Hand der UV-Spektren sehr gut verfolgen, weil sich die Phenoxazone mit ihrer charakteristischen Bande bei 410-480 mμ deutlich von den Phenylchinoniminen mit den kennzeichnenden Absorptionen um 225 und um 310 mμ unterscheiden.

Bei den Ommochromen wurde das Phenoxazonssystem für die Farbstoffe Xanthommatin (II)^{8,9} Rhodommatin und Ommatin D^{7,17} bewiesen.

In den letzten Jahren ist die Bedeutung von Phenoxazonfarbstoffen in der Natur immer offensichtlicher geworden. H. Brockmann und Mitarbeiter¹⁸ bewiesen die Phenoxazonstruktur des Actinomycin-Chromophors. J. Gripenberg¹⁹ zeigte, dass das Pilzpigment "Cinnabarin säure"

-
- 17) A. Butenandt, E. Bickert, R. Beckmann, Liebigs Ann. Chem. 607, 207 (1957)
- 18) H. Brockmann, H. Muxfeldt, Chem. Ber. 91, 1248 (1958)
- 19) Act. Chem. skand. 12, 603 (1958)

mit 3-Amino-4.5-dicarboxyphenoxazon-(2) (VIII) identisch ist. H. Musso und Mitarbeiter²⁰ isolierten aus synthetischem Orceinfarbstoff sieben kristalline Phenoxazonderivate.

Bei der engen genetischen Verknüpfung von Phenoxazonen und Phenylchinoniminen ist es naheliegend, auch das Vorkommen der letzteren namentlich unter den Ommochromen anzunehmen. Noch lässt sich nicht absehen, wie weit die im Vergleich zu den Phenoxazonen wesentlich labileren Phenylchinoniminstrukturen durch die bisher angewandten Isolierungsverfahren verändert oder nicht erfasst sein können. Auch sind Stabilisierungsreaktionen denkbar, die nicht zu Phenoxazonen, sondern zu anderen Strukturen führen, wofür die Bildung des Azepinsystems (XIV) als erstes Beispiel gelten mag.

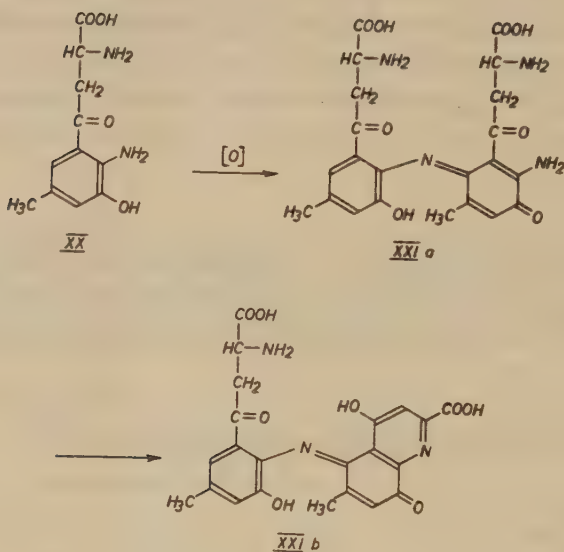
In diesem Zusammenhang scheint es wünschenswert, an Hand einer Modellverbindung die Reaktionsweisen und das spektrale Verhalten solcher Phenylchinonimine zu untersuchen, die aus Hydroxykynurenin entstehen könnten.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war daher die Synthese des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins (XX) und die Untersuchung seines Verhaltens bei der Oxydation.

Die gegenüber Hydroxykynurenin zusätzliche Methylgruppe sollte dabei die

20) Chem. Ber. 90, 1808, 1814, 2190 (1957)
Chem. Ber. 91, 2001, (1958)
Angew. Chem. 69, 178 (1957)

Phenylchinoniminstruktur (XXI a, XXI b) zulassen und den Übergang in das Phenoxazonsystem verhindern. In Analogie zur Bildung des Xanthommatins (I, II) ist ein Chinolinringschluss zu XXI b zu erwarten. Damit wäre ein "ringoffenes Xanthommatin" entstanden, dessen spektrales Verhalten Rückschlüsse auf das eventuelle Vorkommen in der Natur erlauben würde.

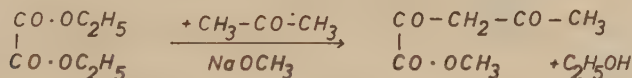


Allgemeiner Teil

Die Synthese des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins (XX) erfolgte über 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXVIII) als Schlüsselsubstanz. Dieses wurde über 3-Hydroxy-5-methyl-benzoesäure (XXIV) dargestellt^{15,16}.

1. Darstellung der 3-Hydroxy-5-methyl- benzoesäure (XXIV)

Basierend auf grundlegenden Arbeiten von L. Claisen²¹ kondensiert man nach E. Berner und S. Laland²² Oxalsäurediäthylester in Gegenwart von Natriummethylat mit Aceton. Dabei entsteht unter gleichzeitiger Alkoholyse das Natriumsalz des Acetylbrenztraubensäuremethylesters (XXII).

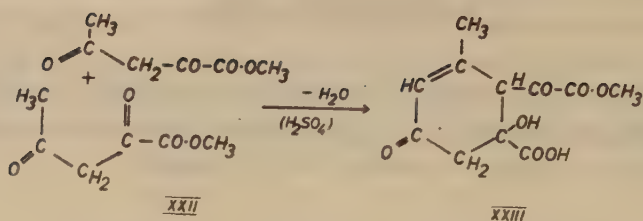


XXII

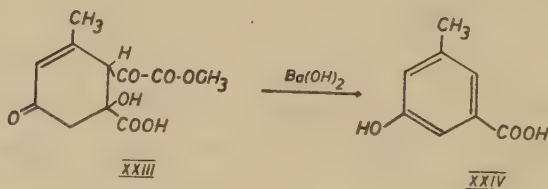
Die Kondensation zweier Moleküle Acetylbrenztraubensäuremethylester in Schwefelsäurelösung unter Wasserabspaltung und Ringschluss liefert in sehr guter Ausbeute 3-Methyl-4-methoxyoxalyl-5-hydroxy-5-carboxy-cyclohexen-(2)-on-(1) (XXIII).

21) Chem. Ber. 22 II, 3271 (1889)

22) Act. Chem. skand. 3, 345 (1949)



Die Aromatisierung der Cyclohexenon-Verbindung erfolgt in heisser Bariumhydroxydlösung, wobei die Estergruppierung verseift und unter Bildung von 3-Hydroxy-5-methyl-benzoesäure (XXIV) Wasser und Oxalsäure abgespalten werden.



Bei der Isolierung des Reaktionsproduktes durch Extraktion mit heissem Wasser erhielt M. Däuble¹⁵ eine Ausbeute von 25 % d. Th., bezogen auf Oxalsäurediäthylester. Durch Ansäuern des Reaktionsgutes und Extrahieren mit Äther konnte ein reineres Produkt mit einer Ausbeute von 34 % gewonnen werden. Die elfenbeinfarbene 3-Hydroxy-5-methyl-benzoesäure schmilzt bei 207° unter Decarboxylierung.

2. Malonestersynthese des 3-Hydroxy-5-methyl-
acetophenons

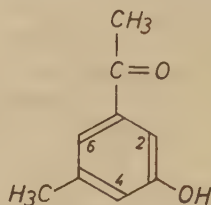
3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXVIII) decarboxyliert.

Der weitere Syntheseweg zum 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin umfasst die Nitrierung des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons (XXVIII) zum 2-Nitroderivat (XXXI), das später mit Glyoxylsäure zur 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII) kondensiert wird (vgl. Reaktionsschema S.37).

3. Nitrierung des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons (XXVIII)

Bei der Nitrierung des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons sind theoretisch drei isomere Nitroderivate zu erwarten, sofern unter Bedingungen gearbeitet wird, die eine Mehrfachsubstitution vermeiden.

Die Acetylgruppe als Substituent 2. Ordnung erschwert den Eintritt der Nitrogruppe an allen drei möglichen Stellen. Die Hydroxygruppe wird diesen positivierenden Einfluss nur zum Teil kompensieren, am ehesten in der 6-Stellung.



a) Nitrierung mit rauchender Salpetersäure in absolutem Äther

Im Anschluss an die Arbeiten von M. Däuble ¹⁵, der die Nitrierung des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons (XXVIII) bereits untersucht und zwei Mononitroderivate isoliert hatte, wurde nach dessen Angaben das 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon bei -15 bis -10° in absolutem Äther mit rauchender Salpetersäure nitriert. Bei Variation der Temperatur zeigte sich, dass bei -18 bis -20° nur etwa die Hälfte des Ausgangsstoffes umgesetzt wurde, während bei höheren Temperaturen in zunehmendem Masse rot gefärbte, schmierige Nebenprodukte (Polynitroderivate) auftraten. Die Ausbeute an rohem Gemisch der isomeren Nitroverbindungen betrug 63 % d. Th.

Die Trennung der drei isomeren Nitroverbindungen kann durch fraktionierte Kristallisation aus Benzol und Petroläther erfolgen. Man erhält so¹⁶

23 % 6-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXIX)

18 % 4-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXX)

4 % 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXI).

Die in Übereinstimmung mit den theoretischen Überlegungen geringe Ausbeute an dem gewünschten 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon veranlasste eine intensive Suche nach anderen Methoden der Nitrierung. Es kam darauf an, die Direktionseffekte der Substituenten am Benzolkern so zu beeinflussen, dass das an sich stark benachteiligte 2-Nitro-Derivat in annehmbarer Ausbeute anfiel.

Da bei der Nitrierung mit rauchender Salpetersäure in Äther immer gewisse Anteile des Ausgangsmaterials nicht umgesetzt wurden - vermutlich weil das im Reaktionsverlauf entstehende Wasser die Konzentration an nitrierendem Agens zu stark herabsetzte - schien ein wasserbindendes Reaktionsmedium wünschenswert. Nach Versuchen in unserem Institut²⁵ schied Nitriersäure in diesem Fall aus. Dagegen bot sich als wirksames Agens Acetylnitrat in Gestalt einer Mischung von Acetanhydrid mit rauchender Salpetersäure an.

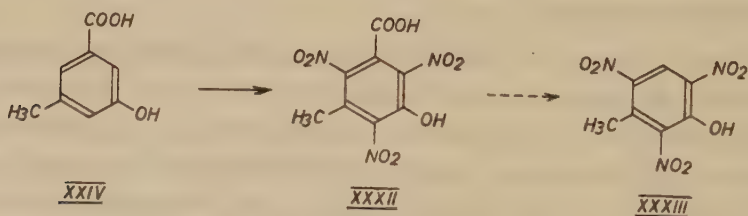
b) Nitrierungen mit rauchender Salpetersäure in Acetanhydrid

Da die Behinderung der ortho-Substitution durch die Carboxylgruppe schwächer ist als die durch die Acetylgruppe²⁶, wären bei der Nitrierung der 3-Hydroxy-5-methyl-benzoesäure höhere Ausbeuten an 2-Nitro- und 6-Nitro-Derivaten zu erwarten und weniger 4-Nitro-Derivat als beim 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon.

25) M. Däuble, unveröffentlicht

26) L. F. Fieser "Lehrbuch der organischen Chemie" 3. Aufl. S. 646

Die Einwirkung von rauchender Salpetersäure in Acetanhydrid auf 3-Hydroxy-5-methyl-benzoesäure (XXIV) führte bei Temperaturen von 10-20° zu der schon von C. Liebermann und W. A. van Dorp²⁷ als "Nitrococcussäure" aus Cochenillecarmin und siedender Salpetersäure erhaltenen 2.4.6-Trinitro-3-hydroxy-5-methylbenzoesäure (XXXII). Die Identität der Verbindung wurde durch IR-Spektrum, Schmelzpunkt und Analyse nachgewiesen. Daneben entstand etwas 2.4.6-Trinitro-m-Kresol (XXXIII), dessen Identität durch Mischschmelzpunkt und Übereinstimmung der IR-Spektren mit einem durch Nitrierung von m-Kresol hergestellten Präparat belegt wurde.



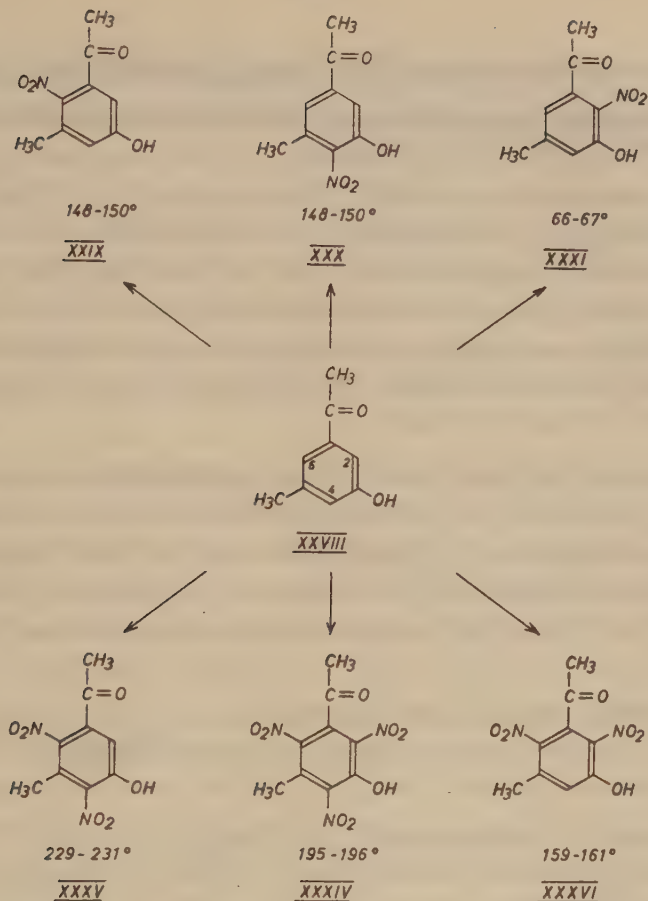
Die Neigung der Nitrobenzoesäurederivate zum Decarboxylieren gab Anlass, wieder zum Acetophenonderivat zurückzukehren. (Ein Schutz der Carboxylgruppe durch Veresterung hätte zwar den meta-dirigierenden Effekt nochmals herabgesetzt, schien aber im Hinblick auf die weitere Synthese nicht günstig).

Analog entsteht aus 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXVIII) das unseres Wissens bisher nicht beschriebene 2.4.6-Trinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXIV) vom Schmp. 195-196°.

Die Nitrierung mit Salpetersäure in Acetanhydrid geht also in diesen Fällen im Gegensatz zu allen anderen bisher untersuchten Methoden^{15,28} ausserordentlich leicht vonstatten.

27) Liebigs Ann. Chem. 163, 101 (1872)

28) A. Butenandt, G. Hallmann, R. Beckmann, Ber. 90, 1120 (1957)



Reaktionsschema

Nitrierung des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons (XXVIII)

Versuche, die Nitrierwirkung des Salpetersäure-Acetanhydridgemisches durch Vermindern der Salpetersäuremenge und Herabsetzen der Reaktionstemperatur abzuschwächen, führten nur zur Acetylierung der phenolischen Hydroxylgruppe.

c) Nitrierungen mit rauchender Salpetersäure in Eisessig-Acetanhydrid

α) Abhängigkeit der Nitrierung von der Dielektrizitätskonstanten des Lösungsmittels und der Temperatur

Nach Untersuchungen von J. Podkowka und A. Tarnawski²⁹ ist das Verhältnis von para- zu ortho-Isomeren bei der Nitrierung des Phenols mittels Stickstoffdioxys stark von der Dielektrizitätskonstanten des Lösungsmittels abhängig. Während in Lösungsmitteln mit kleiner DK wie Tetrachlorkohlenstoff para- und ortho-Nitrophenol in etwa gleicher Menge entstehen, wird das para-Isomere mit steigender DK (Benzol, Alkohol) immer stärker und um ein Vielfaches bevorzugt.

Im Zusammenhang mit der Regel³⁰, nach der Substituenten erster Ordnung - im Falle des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons also vornehmlich die phenolische Hydroxylgruppe - eintretende Nitrogruppen bei tiefer Temperatur meist bevorzugt in die ortho-Stellung dirigieren, während bei höherer Temperatur überwiegend para-Substitution erfolgt, ergeben sich als günstige Bedingungen für eine Synthese des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons

1. hochwirksames nitrierendes Agens
2. Lösungsmittel möglichst kleiner Dielektrizitätskonstante
3. tiefe Temperaturen.

Deshalb wurde das Reaktionsmedium Salpetersäure-Acetanhydrid, das zweifellos nach $\text{CH}_3\text{CO}\cdot\text{O}\cdot\text{CO}\cdot\text{CH}_3 + \text{HONO}_2 = \text{H}_3\text{C}\cdot\text{CO}\cdot\text{ONO}_2 + \text{H}_3\text{CCOOH}$ das stark aktive Acetylnitrat bildet, mit Eisessig verdünnt. Der Essigsäurezusatz sollte einerseits die Geschwindigkeit der Nitrierung herabsetzen und damit den Eintritt von mehreren Nitrogruppen in den Benzolkern verhindern, andererseits durch Erniedrigung der Dielektrizitätskonstanten (Acetanhydrid 20.5, Eisessig 6.13) die Ausbeuten an Mononitroverbindungen zugunsten derjenigen Isomeren verschieben, welche die Nitrogruppe in ortho-Stellung zum phenolischen Hydroxyl enthalten.

29) Mh. Chem. 90, 179 (1959)

30) F. Klages, Lehrbuch der organischen Chemie I, S. 642

β) Dinitro-Derivate des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons

Nitriert man 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon in einer Mischung von Eisessig und Acetanhydrid im Volumenverhältnis 2,7 : 1 mit der 1,6fachen molaren Menge rauchender Salpetersäure bei 10°, so erhält man zwei isomere Dinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenone mit den Schmelzpunkten 229-231° (Ausbeute 7,5 % d. Th.) und 159-161° (Ausbeute 5 % d. Th.), die durch fraktionierte Kristallisation getrennt werden können. Daneben entstehen das 2-Nitro- und das 6-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon zu gleichen Teilen (Ausbeute 4,4 % d. Th.), sowie wenig 4-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon.

Diese Ausbeuteverhältnisse weisen bereits deutlich darauf hin, dass das hier angewandte Nitrierverfahren für die Gewinnung des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons günstiger ist als die Nitrierung in Äther und alle anderen bisher erprobten Verfahren, bei denen die 6-Nitro-Verbindung stark bevorzugt entstand und das 2-Nitro-Derivat am stärksten benachteiligt war^{15,16,28}.

γ) Darstellung von 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXI) als bevorzugtes Isomeres

Die Verhältnisse ändern sich weiter in der gewünschten Weise, wenn der Salpetersäureüberschuss nochmals erniedrigt wird und man dafür sorgt, dass die wirksame Konzentration an nitrierendem Agens verringert wird, so dass die Erschwernis des Eintritts einer zweiten Nitrogruppe in den Benzolkern durch den positivierenden Effekt der ersten sich stärker auswirken kann.

Die Nitrierung von 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon in Eisessig-Acetanhydrid im Volumenverhältnis 3,1 : 1 mit einem 1,15fachen molaren Überschuss an rauchender Salpetersäure bei 10° unter sehr langsamer Zugabe der Nitriermischung lieferte ein Gemisch isomerer Nitroderivate des Hydroxymethylacetophenons (Rohausbeute 93 %), aus dem die 2-Nitro-Verbindung mit dem höchsten Prozentsatz isoliert werden konnte.

δ) Säulenchromatographische Trennung der drei isomeren Mononitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon-Derivate

Die gewünschte erhöhte Ausbeute an 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon wurde aber nicht nur durch die Auswahl günstiger Lösungsmittel- und Nitriermittel-Kombinationen erreicht. Es musste darüber hinaus ein neuer Weg zur Trennung der Isomeren gefunden werden.

Durch die früher angewandte fraktionierte Kristallisation aus Benzol und Benzin wurde zuerst das 6-Nitro-Derivat, dann das 4-Nitro-Derivat und erst zum Schluss das gewünschte 2-Nitro-Derivat abgeschieden. Die Natur der verwendeten Lösungsmittel und die Reihenfolge des Auskristallisierens sprechen dafür, dass die Polarität bei der 6-Nitro-Verbindung am stärksten und bei der 2-Nitro-Verbindung am schwächsten ausgeprägt ist; die erste löst sich mässig in Benzol, sehr schwer in Benzin, die zweite löst sich leicht in Benzol und lässt sich aus Benzin umkristallisieren.

Diese unterschiedlichen Polarisationsverhältnisse legten eine säulenchromatographische Trennung nahe. Da die Adsorption isomerer Verbindungen an Aluminiumoxyd ihrer Polarisierung proportional ist, war zu erwarten, dass das gewünschte 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon am leichtesten eluierbar sein würde.

Versuche zur chromatographischen Trennung der drei Isomeren an Aluminiumoxyd und Silicagel erwiesen die Richtigkeit dieser Überlegungen. In beiden Fällen wurden die Isomeren mit sehr guten Trenneffekten in der Reihenfolge 2-Nitro-, dann 4-Nitro-, und schliesslich 6-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon eluiert. Mit Benzol wandert praktisch nur die 2-Nitro-Verbindung. Man erhält so ein Präparat hoher Reinheit, das nach einmaligem Umkristallisieren aus Benzin zur weiteren Synthese verwendbar ist.

Anschliessend wird mit Chloroform-Essigester 1:1 die 4-Nitro-Verbindung, danach mit Essigester die 6-Nitro-Verbindung eluiert.

Aluminiumoxyd und Silicagel verhalten sich unter den angewandten Bedingungen qualitativ gleich. Die Trenneffekte an Aluminiumoxyd sind jedoch etwas günstiger.

Auf diese Weise werden isoliert:

20-22 % 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXI)

9-10 % 4-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXX)

18-20 % 6-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXIX)

Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Ausbeuteverhältnissen der Nitrierung in Äther (S. 17), so zeigt sich, in wie grossem Masse sich die Direktionsverhältnisse an mehrfach substituierten Benzolkernen in Abhängigkeit von der Natur des Lösungsmittels und des nitrierenden Agens ändern können. Sie weisen zugleich darauf hin, dass den Aussagen von J. Podkowka und A. Tarnawski²⁹ über die Abhängigkeit der Direktionseffekte von der Dielektrizitätskonstanten des Lösungsmittels bei der Nitrierung allgemeinere Bedeutung zukommt.

4. Spektren der Nitroderivate des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons

Nachdem nunmehr sechs verschiedene Nitroderivate des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons vorliegen und drei Nitroderivate des 3-Hydroxy-acetophenons²⁸ zur Deutung der Effekte mit herangezogen werden können, sollen die UV- und IR-Spektren der Verbindungen diskutiert werden. Daraus werden sich auch Schlüsse auf die Stellung der zwei Nitrogruppen in den beiden isomeren Dinitro-Verbindungen ziehen lassen.

a) UV-Spektren

α) Mononitroverbindungen

Vergleicht man die UV-Spektren der Nitroverbindungen des 3-Hydroxy-acetophenons und des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons (Abb. 1 bis 6) mit denen des o-Nitrophenols, des p-Nitrophenols und des m-Hydroxy-acetophenons (Houben-Weyl, III/2, S. 664) an Hand ihrer langwelligen Absorptionsbanden, so lassen sich Rückschlüsse auf die chromophoren Systeme in den Nitroverbindungen ziehen.

Es ergibt sich (Tabelle 1, Spalte II), dass in alkoholischer Lösung bei 6-Nitro- und beim 4-Nitro-3-hydroxy-acetophenon der spektrale Typ des p- bzw. o-Nitrophenols vorliegt, während die entsprechenden Verbindungen mit Methylgruppe, also 6-Nitro- und 4-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (Tabelle 1, Spalte III), den Typ des m-Hydroxy-acetophenons (Spalte IV) aufweisen.

Die beiden homologen Verbindungen mit der Nitrogruppe in 2-Stellung, also 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenon und 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (Spalte II und III, Reihe C) zeigen sowohl die Absorption des o-Nitrophenols als auch die des m-Hydroxy-acetophenons, wobei die Extinktion der kürzerwelligen m-Hydroxy-acetophenonbande überwiegt.

In alkalischer Lösung entsprechen die Spektren aller Nitroverbindungen denen der p- bzw. o-Nitrophenolate; nur im Falle des 4-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons scheint eine Inflexion um 350 m μ den Acetylphenolchromophor anzudeuten.

Allgemein wird bei Benzolderivaten das Spektrum einer Verbindung mit verschiedenen Substituenten gleicher Art (Gruppen mit π -Elektronen oder einsamen Elektronenpaaren) durch den am stärksten chromophor wirksamen Substituenten bestimmt, sofern dessen Konjugation mit dem Benzolkern nicht durch ortho-ständige Substituenten gestört wird.

Danach lassen sich aus den UV-Daten der betrachteten Verbindungen in Bezug auf die Konjugation der Nitrogruppe zum Benzolkern die folgenden Schlüsse ziehen (vgl. Abb. 1-6 und Tabelle 1):

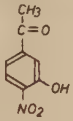
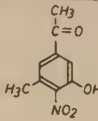
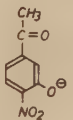
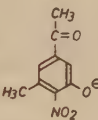
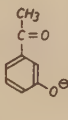
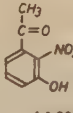
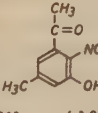
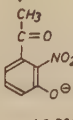
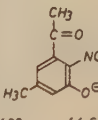
	I	II	III	IV
A	 317.5 (10 000)	 317 (9 050)	 310 (3 900)	
	$+ OH^- \rightarrow - H_2O$  402.5 (19 200)	 410 (18 200)	 405 (16 400)	308 (2 300)
B	 351 (3 200)	 355 (5 010)	 315 (2 610)	 308 (2 300)
	 416 (4 800)	 440 (8 200)	 [~350 (850)] 415 (1 540)	 349 (2 400)
C	 351 (3 200)	 307 (3 000) [~350 (1 000)]	 313 (3 000) [~350 (2 000)]	308 (2 300)
	 416 (4 800)	 420 (3 500)	 422 (4 600)	349 (2 400)

Tabelle 1

Wellenlängen und Extinktionskoeffizienten der langwelligen Absorptionsbanden einiger Phenolderivate in alkoholischer und alkalischer Lösung

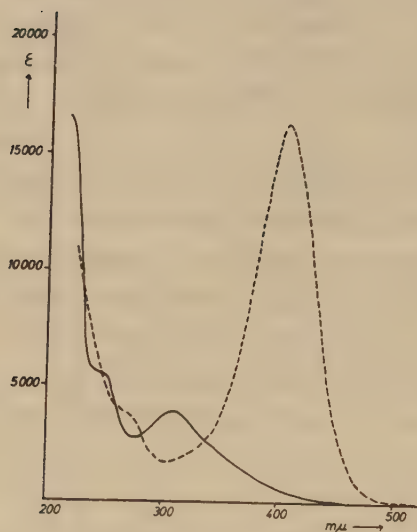


Abb. 1

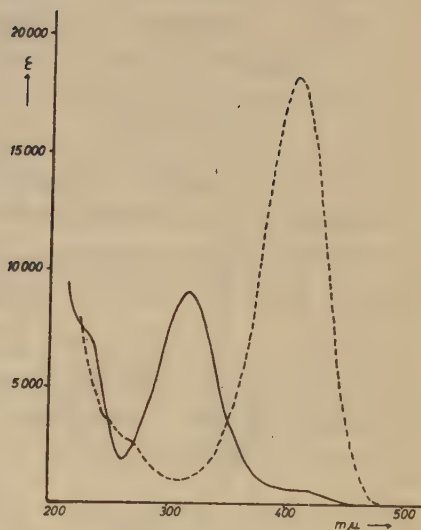


Abb. 2

Abb. 1 UV-Spektrum des 6-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons
 — in Äthanol, ---- in 0.1n NaOH

$\lambda_{\max} (\epsilon)$: [218 (15 830)] [245 (5 580)] 310 (3 920) in Äthanol
 [265 (4 020)] 405 (16 400) in 0.1n NaOH

Abb. 2 UV-Spektrum des 6-Nitro-3-hydroxy-acetophenons
 — in Äthanol, ---- in 0.1n NaOH

$\lambda_{\max} (\epsilon)$: [232 (7 200)] 317 (9 050) in Äthanol
 [265 (2 800)] 410 (18 200) in 0.1n NaOH

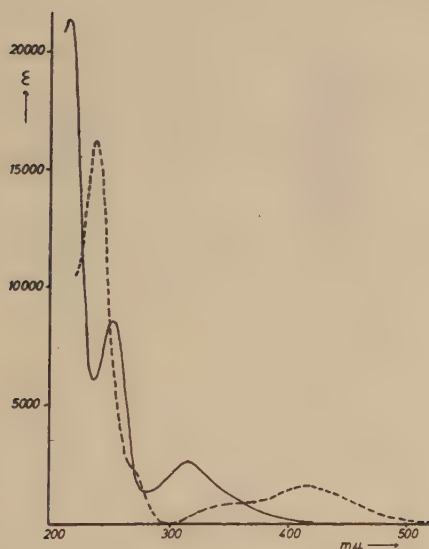


Abb. 3

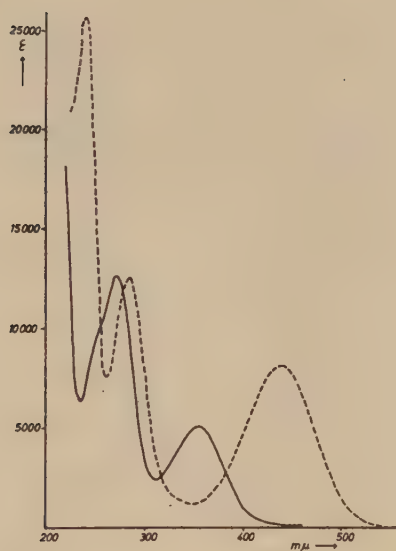


Abb. 4

Abb. 3 4-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon
 — in Äthanol, --- in 0.1n NaOH

$\lambda_{\max}$ (ϵ): 215 (21 400) 251 (8 650) 315 (2 610) in Äthanol
 237 (16 250) [350 (850)] 415 (1 540) in 0.1n NaOH

Abb. 4 4-Nitro-3-hydroxy-acetophenon
 — in Äthanol, --- in 0.1n NaOH

$\lambda_{\max}$ (ϵ): 240 (25 700) 271 (12 700) 355 (5 010) in Äthanol
 285 (12 660) [285 (12 660)] 440 (8 200) in 0.1n NaOH

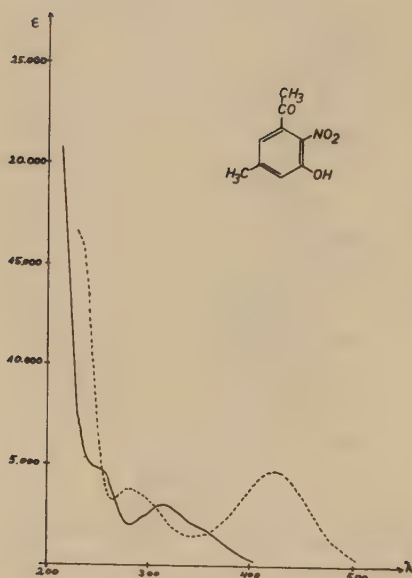


Abb. 5

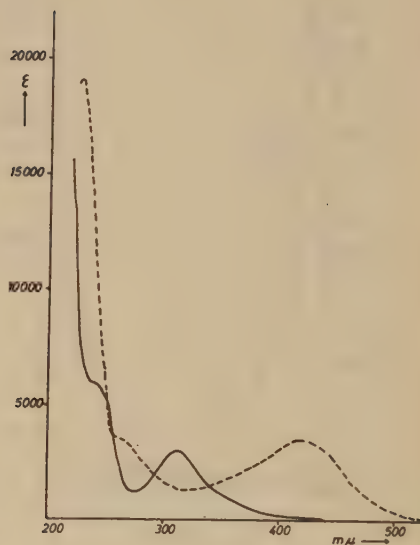


Abb. 6

Abb. 5 UV-Spektrum des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons
 — in Äthanol, ---- in 0.1n NaOH

$\lambda_{\max}$ (ε):	[250 (4860)]	313 (3 000)	[350 (2 000)]	in Äthanol
	[225 (16 700)]	280 (3 740)	422 (4 600)	in 0.1n NaOH

Abb. 6 UV-Spektrum des 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenons
 — in Äthanol, ---- in 0.1n NaOH

$\lambda_{\max}$ (ε):	[242 (5 900)]	307 (2 980)	[350 (1 000)]	in Äthanol
		[265 (3 420)]	420 (3 460)	in 0.1n NaOH

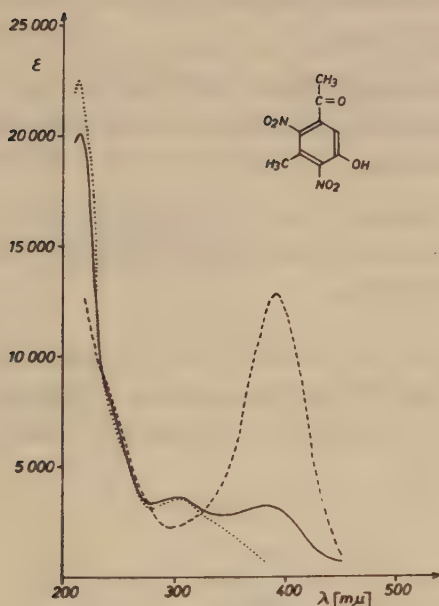


Abb. 7

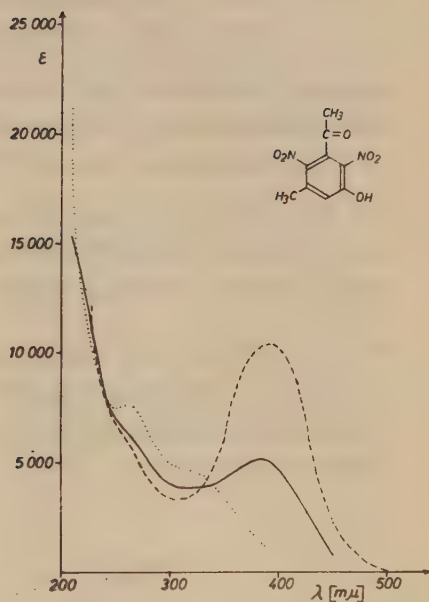


Abb. 8

Abb. 7 UV-Spektrum des (4.6-)Dinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons,
Schmp. 229-231°

— in Äthanol, --- in 0.1n NaOH, in 0.1n HCl

$\lambda_{\max}$ (ε): 214 (22 500) [250 (6 480)] 305 (3 600) in 0.1n HCl
390 (12 900) in 0.1n NaOH

Abb. 8 UV-Spektrum des (2.6-)Dinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons,
Schmp. 159-161°

— in Äthanol, --- in 0.1n NaOH, in 0.1n HCl

$\lambda_{\max}$ (ε): 261 (7 700) [320 (4 630)] in 0.1n HCl
[265 (5 600)] 390 (10 550) in 0.1n NaOH

Die beim 6-Nitro-3-hydroxy-acetophenon bestehende Konjugation wird durch die Einführung der Methylgruppe in 5-Stellung aufgehoben (sterische Hinderung); sie ist beim Phenolation aber wieder vorhanden.

Analoge Verhältnisse zeigen die 4-Nitroverbindungen, doch liegt hier beim Methylhomologen auch noch in alkalischer Lösung eine teilweise Behinderung der Konjugation vor.

Bei den 2-Nitroverbindungen ist die Konjugation bei den undissoziierten Formen, nicht aber bei den Phenolationen partiell gestört; die Einführung einer Methylgruppe in 5-Stellung hat keinen Einfluss.

Für das Auftreten einer Konjugation bei den Phenolatformen derjenigen Verbindungen, deren undissoziierte Formen sterisch behindert sind, könnte die Änderung der Bindungsabstände bei der Annäherung an das chinoide System im Rahmen der Mesomerie



ebenso eine Rolle spielen wie der gegenüber neutraler Lösung beträchtlich grössere Gewinn an Mesomerieenergie.

β) Dinitroverbindungen

Die UV-Spektren der beiden isomeren Dinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenone (XXXV) (XXXVI) in Abb. 7 und 8 zeigen in Alkali beide bei 390 mμ die Bande der p-Nitrophenolate mit Extinktionen über 10 000. Beide Dinitroverbindungen enthalten also eine Nitrogruppe in 6-Stellung, der para-Stellung zum phenolischen Hydroxyl.

Die zweite Nitrogruppe muss daher einmal in 2- und einmal in 4-Stellung stehen, in beiden Fällen in ortho-Stellung zum Hydroxyl.

In alkoholischer Lösung sind beide Dinitroverbindungen bereits teilweise dissoziiert, denn die Spektren zeigen in Abhängigkeit von der Konzentration die mehr oder weniger intensive Bande der Phenolationen bei 390 mμ. Die Spektren der undissoziierten Verbindungen erhält man durch Messung in 0.1n HCl.

g) Trinitroverbindung

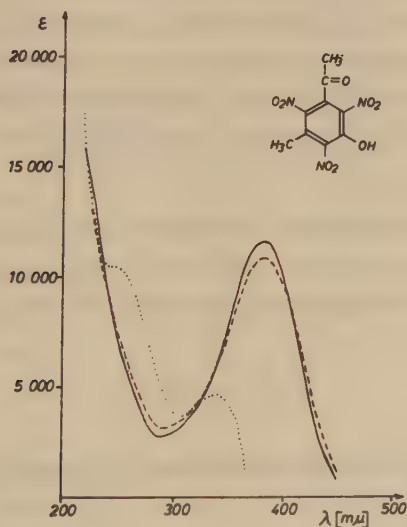


Abb. 9 UV-Spektrum des 2.4.6-Trinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons

— in Äthanol, ---- in 0.1n NaOH, in 4.4n HCl

2.4.6-Trinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXIV)

$\lambda_{\max}$ (ϵ): 381 (11 650) in Äthanol

245 (10 550) 338 (4 680) in 4.4n HCl

In der Trinitroverbindung des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons (XXXIV) (Abb. 9) ist die Acidifizierung des Phenolwasserstoffs soweit fortgeschritten, dass das Spektrum in Äthanol dem in 0.1n NaOH gemessenen praktisch gleich ist. Das Spektrum der undissoziierten Verbindung wurde in 16proz. HCl gemessen.

b) Die IR-Spektren

α) Mononitroverbindungen

Eine Bestätigung und Ergänzung der an Hand der UV-Spektren entwickelten Vorstellungen liefern die IR-Spektren des 3-Hydroxy-acetophenons, seiner Methylhomologen und ihrer Nitroverbindungen. Hier zeigt sich ein Einfluss der Nitrogruppen auf die Lage charakteristischer Absorptionsbanden, besonders deutlich auf die der aromatisch konjugierten Carbonyl-Valenzschwingung. Tabelle 2 zeigt die Lage der Carbonylbande und ihre durch die Substitution bewirkte Verschiebung.

Die Wellenlänge der Carbonylabsorption ändert sich durch den positivierenden Einfluss der Nitrogruppe auf das konjugierte System, wodurch der Doppelbindungscharakter der Carbonylbindung im Rahmen der Mesomerie



erhöht wird und damit die Kraftkonstante und die Schwingungsfrequenz heraufgesetzt werden.

Die stärkste Verschiebung nach kürzeren Wellenlängen ist bei einer vollständig ebenen Anordnung von Nitrogruppe, Benzolkern und Acetylgruppe zu erwarten, wie sie beim 4-Nitro-3-hydroxy-acetophenon auf Grund der UV-Spektren vorliegen sollte.

Die zweitgrösste Verschiebung ist beim 6-Nitro-3-hydroxy-acetophenon zu erwarten, wo sich die Nitrogruppe nach Aussage der UV-Spektren ebenfalls in der Kernebene befindet.

Tabelle 2

IR-Absorptionen von Acetophenonderivaten

Verbindung	C=O-Bande	Verschiebung
Acetophenon	5.95 μ	0 μ
4-Nitro-acetophenon	5.88 "	0.07 "
2-Nitro-acetophenon	5.84 "	0.11 "
3-Hydroxy-acetophenon	5.98 "	0 "
6-Nitro-3-hydroxy-acetophenon	5.89 "	0.09 "
4-Nitro- dto.	5.88 "	0.10 "
2-Nitro- dto.	5.97 "	0.01 "
3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon	5.98 "	0 "
6-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon	5.96 "	0.02 "
4-Nitro- dto.	5.89 "	0.09 "
2-Nitro- dto.	5.83 "	0.15 "
4.6-Dinitro- dto.	5.95 "	0.03 "
2.6-Dinitro- dto.	5.82 "	0.16 "
2.4.6-Trinitro-dto.	5.79 "	0.19 "

Beim 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenon ist die kleinste Verschiebung zu erwarten, da die UV-Spektren für eine aus der Kernebene herausgedrehte Nitrogruppe sprechen.

Die IR-Spektren (Abb. 10 bis 12 und Tabelle 2) bestätigen diese Erwartungen.

Anders liegen die Verhältnisse bei den Nitroverbindungen des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons. Hier ist die Nitrogruppe in jedem Falle an ihrer Einstellung in die Kernebene gehindert. Am geringsten ist diese Hinderung nach Aussage der UV-Spektren im 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon, wo ja die Nitrophenolbande noch als Schulter vorhanden ist (Abb. 5 und Tabelle 1).

Deshalb ist auch hier die Wechselwirkung zwischen Nitrogruppe und Carbonyl am stärksten und die Carbonylverschiebung am grössten (Abb. 12 und Tabelle 2).

β) Dinitroverbindungen

Überträgt man die an den Mononitroverbindungen des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons geklärten Verhältnisse auf die beiden Dinitroverbindungen, so lässt sich folgern, dass die Verbindung vom Schmp. 229-231°, welche eine Carbonylverschiebung von 0.03 μ aufweist (Abb. 13 und Tabelle 2), keine Nitrogruppe in 2-Stellung enthält, weil eine Nitrogruppe in dieser Stellung allein bereits eine Carbonylverschiebung von 0.15 μ bewirkt.

Im Zusammenhang mit der aus den UV-Spektren abgeleiteten p-Nitrophenolatstruktur beider Dinitroverbindungen wäre damit die Dinitroverbindung vom Schmp. 229-231° als das 4.6-Dinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXV) anzusprechen.

Der Dinitroverbindung vom Schmp. 159-161° käme dann die Struktur eines 2.6-Dinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons (XXXVI) zu.

γ) Trinitroverbindung

Im IR-Spektrum des 2.4.6-Trinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons (Abb. 15) treten die Banden der NO₂-Valenzschwingungen bei 6.47 μ (asymmetrisch) und 7.36 μ (symmetrisch) stark hervor. Die Carbonylbande der C=O-Valenzschwingung liegt bei 5.79 μ extrem kurzwellig.

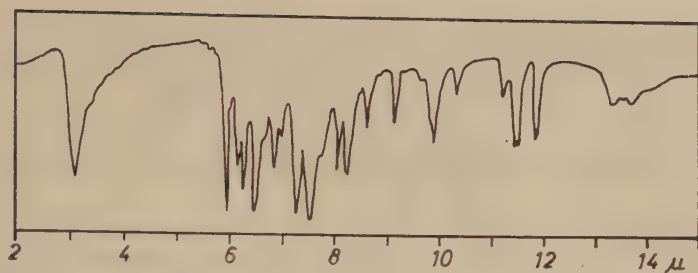


Abb. 10 IR-Spektrum des 6-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons

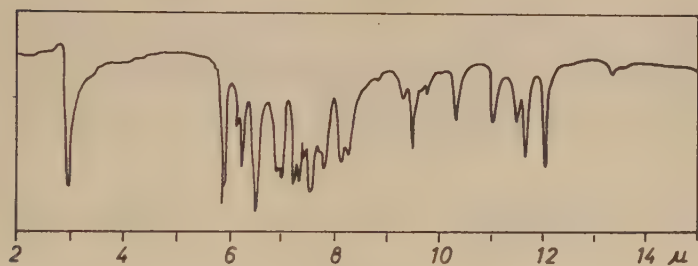


Abb. 11 IR-Spektrum des 4-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons

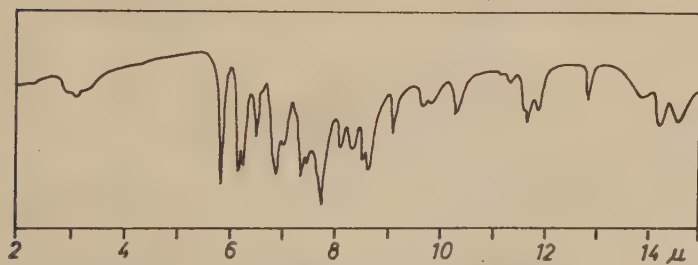


Abb. 12 IR-Spektrum des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons

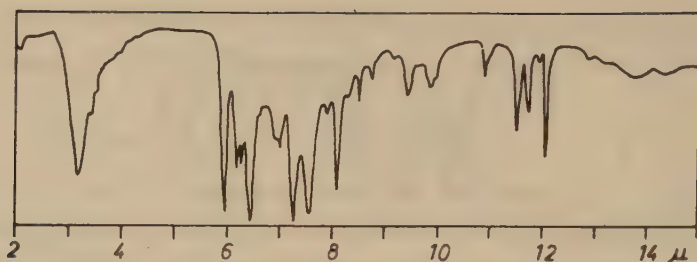


Abb. 13 IR-Spektrum des 4,6-dinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons,
Schmp. 229-231°

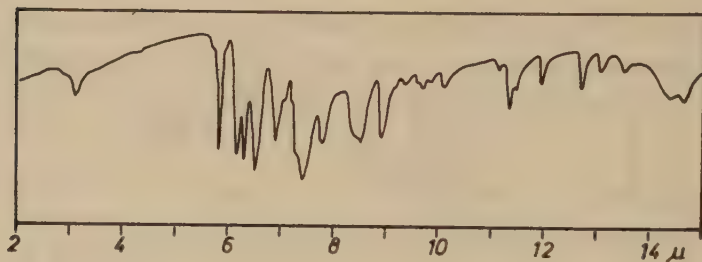


Abb. 14 IR-Spektrum des 2,6-dinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons,
Schmp. 159-161°

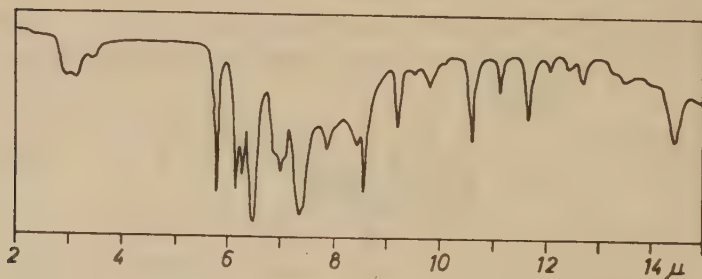


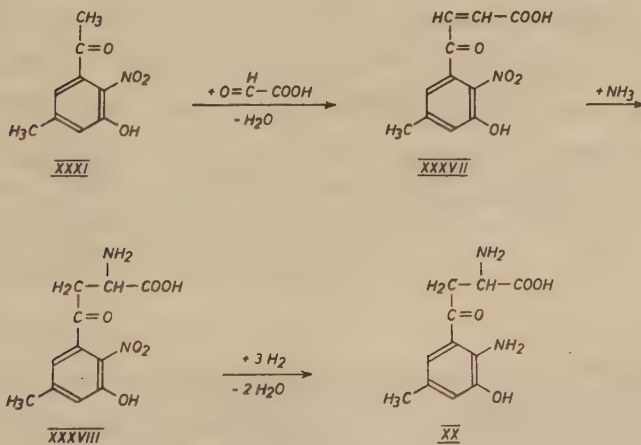
Abb. 15 IR-Spektrum des 2,4,6-Trinitro-3-hydroxy-5-methyl-
acetophenons

5. Darstellung der 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-
benzoylacrylsäure (XXXVII)

a) Kondensation in Anlehnung an die Hydroxykynurenin-Synthese

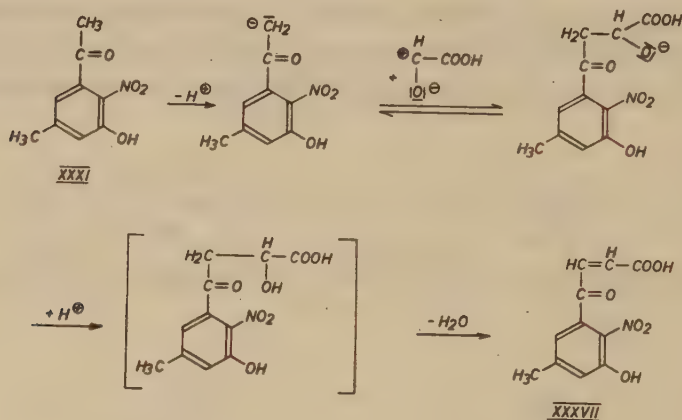
A. Butenandt, G. Hallmann und R. Beckmann ²⁸ hatten aus 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenon durch Kondensation mit Glyoxylsäure die entsprechende Benzoylacrylsäure, daraus durch Ammoniak-anlagerung und Hydrierung das 3-Hydroxy-kynurenin hergestellt.

In der vorliegenden Arbeit wurde aus 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXI) durch Kondensation mit Glyoxylsäure die 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII) synthetisiert, anschliessend Ammoniak zum 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylalanin (XXXVIII) angelagert und durch katalytische Hydrierung das 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin (XX) gewonnen:



Dabei bereitete die Kondensation des methylhomologen Acetophenonderivates (XXXI) mit Glyoxylsäure unerwartete Schwierigkeiten: Während 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenon gut reproduzierbar in 50-60proz. Ausbeute das Benzoylacrylsäurederivat liefert, wurde unter den gleichen Bedingungen aus 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXI) die 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII) nur zu 8 % erhalten.

Der erste Schritt der Kondensation mit Glyoxylsäure ist eine Aldolkondensation und als solche eine Gleichgewichtsreaktion. Im vorliegenden Falle sind Reaktionsgeschwindigkeit und Gleichgewichtslage vom nukleophilen Charakter des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons als Methylenkomponente abhängig.



Es ist bekannt^{31, 32}, dass negativierende Substituenten in der Methylenkomponente die Reaktionsgeschwindigkeit erheblich herabsetzen, während positivierende Substituenten sie erhöhen. Die geringe Ausbeute bei der Kondensation des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons (XXXI) kann demnach durch die Methylgruppe als zusätzlichen negativierenden Substituenten qualitativ erklärt werden.

31) E. Coombs, D. P. Evans J. Chem. Soc. 1940, 1295

32) G. Kresze, B. Gnauck Z. Elektrochem. 60, 174 (1956)

Das Verfahren²⁸ verwendet Bariumglyoxalat, das nach der Vorschrift von O. Doebner³³ hergestellt wurde, und setzt daraus die Glyoxylsäure mit einem geringen Überschuss an Schwefelsäure frei. Die Kondensation in Eisessig-Acetanhydrid kann unter diesen Bedingungen als säurekatalysierte Aldolkondensation angesprochen werden.

Die ungünstigen Ergebnisse bei der Übertragung dieses Verfahrens auf die Darstellung der 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII) gaben Anlass zu einer Reihe von Untersuchungen über die Kondensation von 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXI) mit Glyoxylsäure und ihren Derivaten.

b) Variation von Temperatur und Zeit

Zunächst wurde der Einfluss der Reaktionstemperatur und der Reaktionsdauer auf die Entstehung der 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII) untersucht. Bei einer Reaktionsdauer von 24 (an Stelle von 72) Stunden konnten nur 5 % Kondensationsprodukt neben 20 % Ausgangsmaterial isoliert werden. Dieses Ergebnis spricht für einen sehr langsamen Verlauf der Reaktion.

Die Erhöhung der Reaktionstemperatur von 70° auf 85° bei einer Reaktionsdauer von 28 Stunden brachte nur 3 % Kondensationsprodukt. Eine weitere Temperaturerhöhung schien nicht ratsam, weil damit in zunehmendem Masse dunkelgefärbte Zersetzungsprodukte auftraten. Deshalb wurde versucht, die Aldolkondensation unter anderen Bedingungen durchzuführen.

c) Variation des Katalysators

Wegen der langwierigen Darstellung des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons wurden für die folgenden Versuche 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenon als Modellschubstanz verwendet³⁴. Nur im Falle guter Ausbeuten bei Verwendung dieser leichter kondensierenden Substanz kann auf die Brauchbarkeit einer Kondensationsmethode geschlossen werden.

33) Liebigs Ann. Chem. 311, 130 (1900)

34) Herrn Dipl. Chem. G. von Wettstein in unserem Institut danke ich für die Überlassung der Substanz.

Es wurden Versuche mit Piperidinacetat³⁵ als Kondensationskatalysator durchgeführt. Ferner wurde Glyoxylsäureäthylester unter den Bedingungen der Mineralsäurekatalyse und der Basenkatalyse mit Anionenaustauschern^{36 37} eingesetzt. Dabei konnte das 2-Nitro-3-hydroxy-(5-methyl-)acetophenon (XXXI) nicht zur Kondensation gebracht werden. In vielen Fällen wurde Verharzung beobachtet, was auf eine Polymerisation der Glyoxylsäure schliessen lässt. Ferner blieb bei allen Ansätzen viel Ausgangsmaterial zurück, obwohl Glyoxylsäure im Überschuss eingesetzt wurde. Der Grund hierfür könnte in der Bildung stabiler Hydrate, Halbacetale oder ähnlicher Addukte der Glyoxylsäure³⁸ liegen, welche die gewünschte Reaktion verhindern. Extrem saure oder basische Reaktionsmedien und hohe Temperaturen, mit denen man sonst Aldolkondensationen erzwingen kann, erweisen sich als besonders ungünstig, weil sie Polymerisationsreaktionen der Glyoxylsäure beschleunigen.

Da in Eisessig-Acetanhydrid mit wenig Schwefelsäure die Kondensation möglich ist, musste eine Verbesserung der Ausbeuten am ehesten im schwach sauren Bereich möglich sein. Diese Überlegungen weisen auf die Bedingungen der Perkin-Kondensation hin, wo eine "Basenkatalyse" im sauren Medium erfolgt.

d) Perkinanaloge Kondensation

In Anlehnung an die Darstellung der 2-Nitro-3-hydroxy-benzoylacrylsäure²⁸ wurden die Reaktionsbedingungen denen der Perkin-Kondensation angeglichen. Aus dem Bariumglyoxalat wurde die Glyoxylsäure mit einem Unterschuss an Schwefelsäure freigesetzt und dem Reaktionsmedium aus Eisessig und Acetanhydrid Kaliumacetat als Katalysator zugemischt. Die Reaktionszeit von 3 Tagen wurde beibehalten, die Temperatur auf 85° erhöht, was bei Abwesenheit freier Schwefelsäure ohne Zersetzungs- oder Polymerisationsgefahr möglich ist.

35) Vgl. R. Kuhn, Chem. Ber. 69, 102 (1936)

36) P. Mastagli et al. Compt. rend. hebdomadaire des Séances Acad. Sci. 235, 1038, 1402 (1952)

Bull. Soc. chim. France 20, 693 (1953)

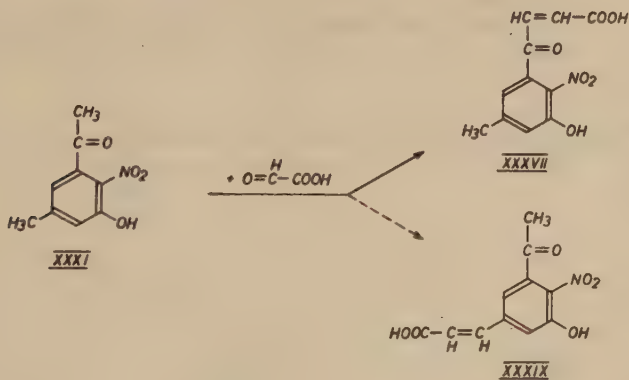
37) G. V. Austerweil, R. Pallaud, Bull. Soc. chim. France 20, 678 (1953)

38) Houben-Weyl, Method. organ. Chem. 7/1, 415

Das rohe Reaktionsprodukt wurde papierchromatographisch untersucht. Im System Äthanol-Ammoniak-Wasser 10:1:4 zeigten sich vier Komponenten, von denen eine mit dem Ausgangsmaterial (Rf 0.75) und eine zweite mit der gesuchten 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (Rf 0.48) übereinstimmte.

Das rohe Reaktionsprodukt wurde an einer desaktivierten Kieselgelsäure aufgetrennt. Nach Eluieren des Ausgangsmaterials mit Benzin wurden mit Benzol 25% d. Th. 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII) gewonnen. Das grüngelbe Kristallpulver hat nach Umkristallisieren aus Toluol einen Schmelzpunkt von 192-193°.

Unter den angewandten Bedingungen wäre auch eine Kondensation der kernständigen Methylgruppe des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons mit Glyoxylsäure zum Phenylacrylsäurederivat (XXXIX) in Analogie zu den Kondensationen der p-Nitrotoluole denkbar:



Ein Vergleich des UV-Spektrums von XXXVII, Schmp. 192-193° (Abb. 16) mit dem der 2-Nitro-3-hydroxy-benzoylacrylsäure²⁸ (Abb. 17) zeigt jedoch, dass beiden Verbindungen das gleiche chromophore System zugrunde liegt. Die Lagen der Maxima in Äthanol wie in 0.2n Natronlauge stimmen so genau überein, dass kein Zweifel an der Struktur der Verbindung XXXVII besteht.

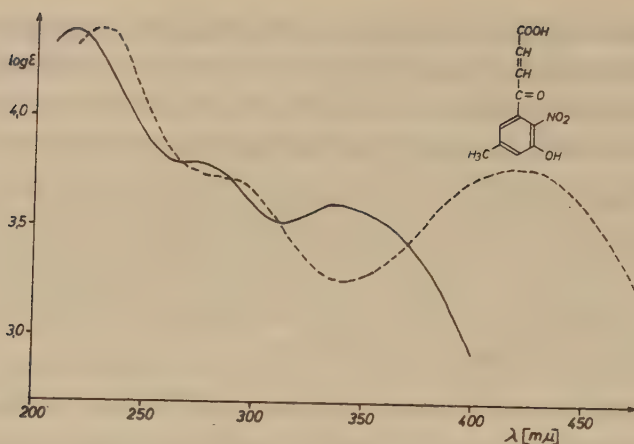


Abb. 16 UV-Spektrum der 2-Nitro-3-hydroxy-5-methylbenzoylacrylsäure (XXXVII).

— in Äthanol, --- in 0.1n NaOH

$\lambda_{\max} (\epsilon)$:	218 (24 300)	270 (6 140)	340 (3 920)	in Äthanol
	231 (24 800)	[280 (5 350)]	420 (5 930)	in 0.1n NaOH

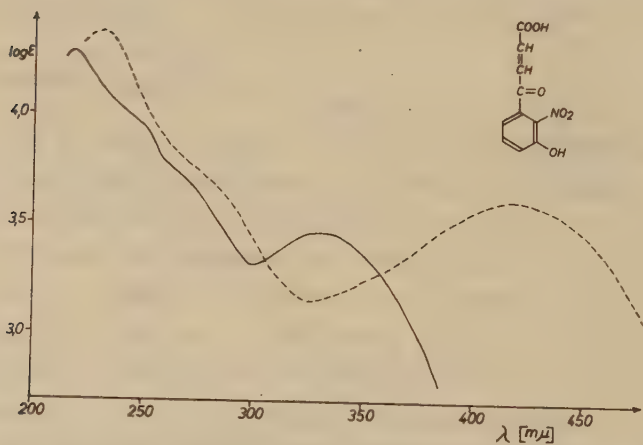


Abb. 17 UV-Spektrum der 2-Nitro-3-hydroxybenzoylacrylsäure
— in Äthanol, --- in 0.1n NaOH

$\lambda_{\max} (\epsilon)$:	218 (19 150)	[250 (8 900)]	[270 (5 000)]	
			330 (3 920)	in Äthanol,
	232 (23 400)	[280 (5 100)]	420 (4 100)	in 0.1n NaOH.

Eine Bestätigung dieser Zuordnung liefern die UV-Spektren des aus XXXVII gewonnenen 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins (XX) und seines Oxazinonderivates (XL) (Abb. 22 und 25).

Auch IR-spektroskopisch wird die Struktur XXXVII bestätigt. Abb. 18 zeigt das IR-Spektrum der 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure zum Vergleich mit dem der 2-Nitro-3-hydroxy-benzoylacrylsäure²⁸, Abb. 19. Auch hier zeigt sich die weitgehende Analogie in der Lage der Absorptionsbanden, die man bei methylhomologen Verbindungen erwarten kann.

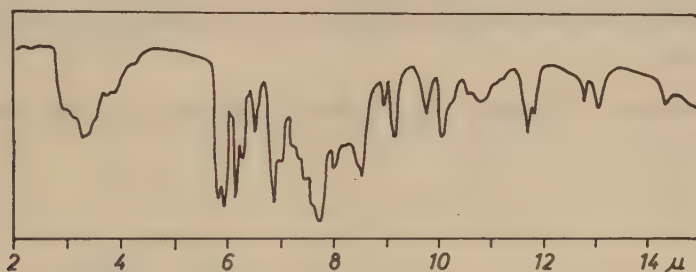


Abb. 18 IR-Spektrum der 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII)

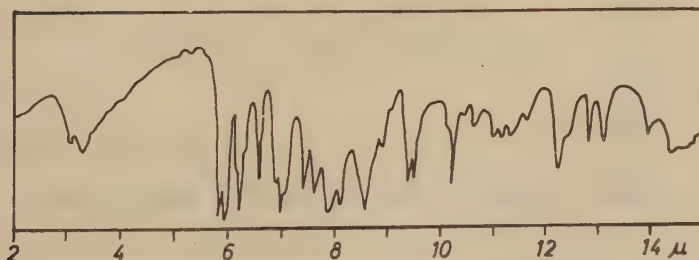


Abb. 19 IR-Spektrum der 2-Nitro-3-hydroxy-benzoylacrylsäure

6. Darstellung des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoyl-
alanins (XXXVIII) und seine Hydrierung zu 3-Hydroxy-
5-methyl-kynurenin (XX)

a) Ammoniak-Addition

2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII) addiert bei Zimmer-temperatur in wässriger Lösung Ammoniak. Das primär entstehende Ammo-niumsalz hydrolysiert in Wasser vollständig zur freien Aminosäure. Die Aus-beute an 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylalanin (XXXVIII) vom Schmp. 198-200° beträgt 96-98 % d. Th. Das Hydrochlorid zersetzt sich bei 185-186°.

Abb. 20 zeigt das UV-Spektrum des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoyl-alanins.

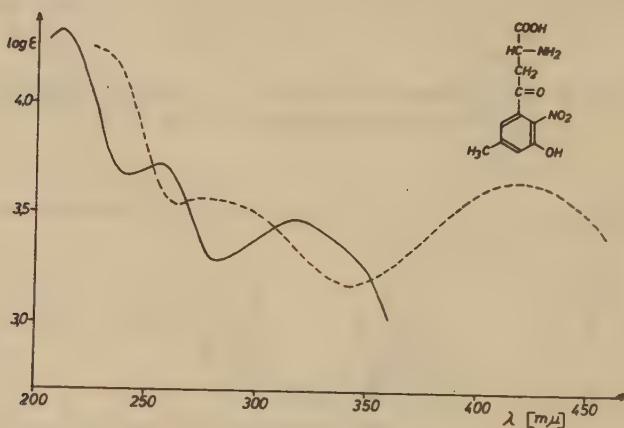


Abb. 20 UV-Spektrum des 2-Nitro-3-hydroxy-
5-methyl-benzoylalanins (XXXVIII)
—— in Äthanol, ----- in 0.1n NaOH

2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylalanin (XXXVIII) (Abb. 20)

λ_{max} (ϵ): 211 (21 050) 256 (5 220) 319 (2 930) in Äthanol
280 (3 700) 420 (4 525) in 0.1n NaOH

Ein Vergleich mit dem UV-Spektrum der 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoyl-acrylsäure (Abb. 16) zeigt in Äthanol eine Verschiebung nach kürzeren Wellenlängen und Verminderung der Extinktionen durch den Wegfall der Doppelbindung der Acrylsäure. In 0.1n Natronlauge verschwinden diese Differenzen weitgehend.

Abb. 21 zeigt das IR-Spektrum des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylalanin-hydrochlorids (XXXVIII).

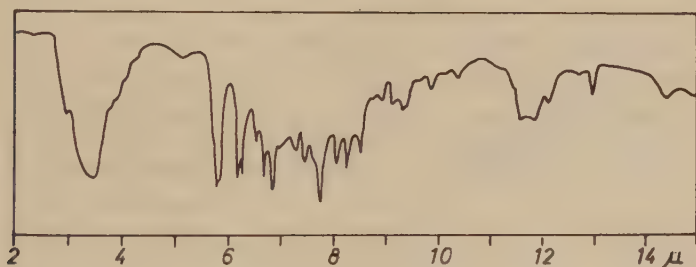


Abb. 21 IR-Spektrum des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylalanin-hydrochlorids (XXXVIII)

b) Katalytische Hydrierung

Wie E. Biekert und H.D. Henning³⁹ zeigten, lässt sich 2-Nitro-3-hydroxy-benzoylalanin mit Palladiumkohle in chlorwasserstoffhaltigem Äthanol mit hohen Ausbeuten hydrieren, während ohne die stabilisierende Wirkung des Chlorwasserstoffs auf die Aminogruppen die Ausbeute durch Zersetzungsprodukte erheblich vermindert wird.

³⁹ Chem. Ber. 92, 2676 (1959)

Auf diese Weise lässt sich auch das 2-Nitro-3-hydroxy-5-methylbenzoylalanin (XXXVIII) bei Zimmertemperatur katalytisch hydrieren. Man erhält das Dihydrochlorid des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins (XX) in Ausbeuten von 96 % d. Th. als elfenbeinfarbenes Kristallpulver, das sich bei 168-170° zersetzt.

Die Synthese des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins (XX), die wie vorstehend ausgeführt insgesamt zehn Stufen umfasst, liefert eine Gesamtausbeute von optimal 0.7 % d. Th.

Ein Vergleich des UV-Spektrums des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins (XX) (Abb. 22) mit dem des 3-Hydroxy-kynurenins²⁸ (Abb. 23) zeigt auch hier die Übereinstimmung der Konstitution.

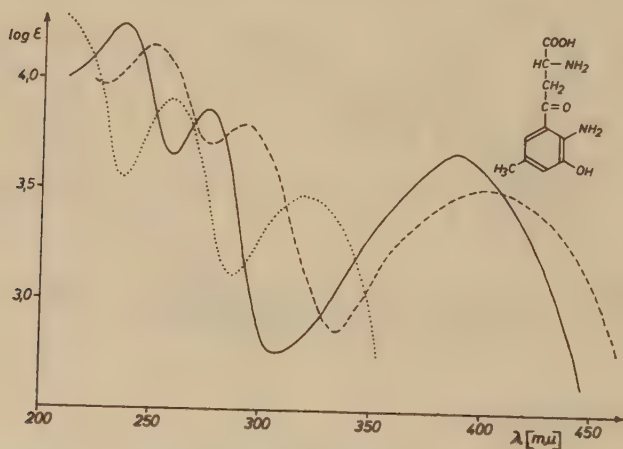


Abb. 22 UV-Spektrum des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins (XX)
 — in Äthanol, --- in 0.1n NaOH, ----- in 1n HCl

$\lambda_{\max}$ (ε):	237 (17 800)	276 (7 250)	390 (4 280)	in Äthanol
	251 (14 350)	292.5 (6 220)	403 (3 295)	in 0.1n NaOH
	210 (19 840)	259 (8 120)	320 (3 000)	in 1n HCl

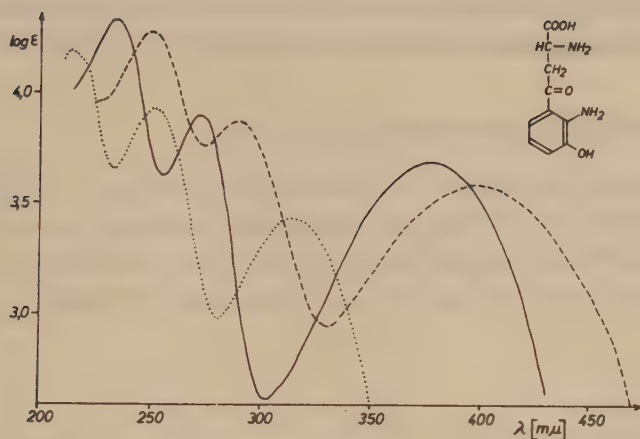


Abb. 23 UV-Spektrum des 3-Hydroxy-kynurenins

— in Äthanol, --- in 0,1n NaOH, in 1n HCl

$\lambda_{\max} (\epsilon)$:	235 (21 500)	272.5 (7 940)	380 (4 970)	in Äthanol
	250 (18 700)	290 (7 540)	398 (3 950)	in 0,1n NaOH
	215 (15 500)	252 (8 500)	292 (2 760)	in 1n HCl

Abb. 24 zeigt das IR-Spektrum des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorids.

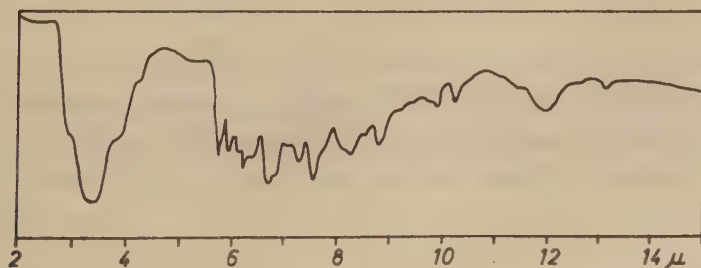
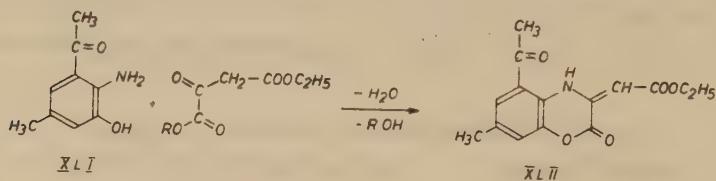


Abb. 24 IR-Spektrum des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorids

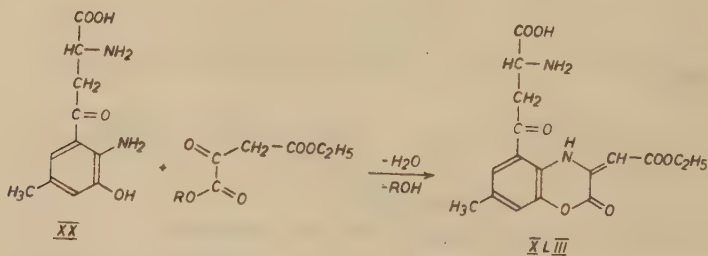
Zur weiteren Charakterisierung des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins wurde ein Derivat dargestellt, nachdem die Analysen des Dihydrochlorids sehr schwankende und ungenaue Werte geliefert hatten.

c) Kondensation mit Oxalessigsäurediäthylester

o-Aminophenole kondensieren mit Oxalessigsäurediäthylester zu Oxazinonen⁴⁰. Die Reaktion wurde zur Charakterisierung des 2-Amino-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons¹⁶ (XLI) herangezogen und lieferte das 3-Carbäthoxymethylen-5-acetyl-7-methyl-3,4-dihydro-[benz-1,4-oxazinon-(2)] (XLII):



In gleicher Weise lässt sich 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin (XX) schon bei Zimmertemperatur in das 3-Carbäthoxymethylen-5-[3-amino-succinyl]-7-methyl-3,4-dihydro-[benz-1,4-oxazinon-(2)] (XLIII) überführen, das in gelben Nadeln vom Schmp. 168-170° kristallisiert.



40) E. Biekert Angew. Chem. 69, 103, 208 (1957),
Habil. Schrift München 1959

In Abb. 25 sind die UV-Spektren der beiden Oxazinone (XLII) und (XLIII) zusammengestellt. Die Übereinstimmung im Verlauf beider Absorptionskurven spricht eindeutig für das gleiche chromophore System in beiden Verbindungen.

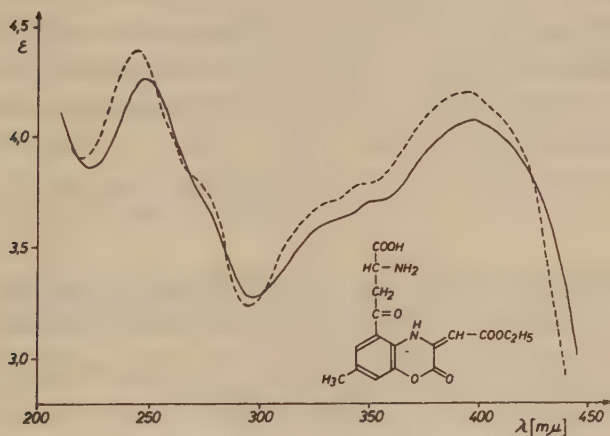


Abb. 25 UV-Spektren des 3-Carbäthoxymethylen-5-[3-amino-succinyl]-7-methyl-3.4-dihydro-[benz-1.4-oxazinon-(2)] (XLIII) (—) und des 3-Carbäthoxymethylen-5-acetyl-7-methyl-3.4-dihydro-[benz-1.4-oxazinon-(2)] (XLII) (----)

(XLIII)	$\lambda_{\max}$	(ϵ):	248 (18 500)	398 (12 150)	in Äthanol.
(XLII)	$\lambda_{\max}$	(ϵ):	245 (24 800)	395 (16 200)	in Äthanol.

Auch bei dem Oxazinonderivat des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins (XLIII) gab die Verbrennungsanalyse sehr schwankende Werte. Der Konstitutionsbeweis stützt sich daher einerseits auf die Synthese aus der analytisch gesicherten Vorstufe (XXXVII), andererseits auf die angeführten spektroskopischen Vergleiche.

7. Oxydation des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins (XX)

Wie in der Einleitung (S. 12) ausgeführt, ist bei der Oxydation des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins (XX) die Bildung eines Phenylchinonimin-Systems (XXIa, b) zu erwarten.

Die dort angeführten Autoren¹⁰⁻¹³ hatten Phenylchinonimine durch verschiedenartige Oxydationsprozesse in wässrigen Medien hergestellt, wobei die Endprodukte sich meist abschieden, in einzelnen Fällen mit organischen Lösungsmitteln extrahiert wurden. Die ersten Versuche zur Oxydation des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins wurden deswegen in wässriger Lösung durchgeführt.

Als Kriterium für das Entstehen eines Phenylchinonimins wurde das UV-Spektrum herangezogen. Die UV-Spektren dieser Stoffklasse haben eine besonders charakteristische Absorptionsbande zwischen 310 und 350 m μ ^{12,13,20}, während sich zwischen 350 und 400 m μ keine Absorption findet.

Bei allen Oxydationsversuchen wurde deshalb nach Produkten mit Absorptionen zwischen 310 und 350 m μ gesucht, wobei die Extinktion einer hier liegenden Bande im Verhältnis zur Extinktion der 390 m μ -Bande des Ausgangsmaterials (vgl. Abb. 22) in erster Näherung als Mass für die Menge des entstandenen Phenylchinonimins dienen konnte.

a) Oxydationsversuche in wässrigen Medien

Zunächst wurde in Anlehnung an frühere Arbeiten in unserem Institut^{12,15,16} 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin (XX) in Phosphatpuffer bei pH 7.1 mit Kaliumferricyanid oxydiert. Das nach Ansäuern mit Butanol extrahierte orangegelbe Pulver zeigte im UV-Spektrum keine Bande zwischen 310 und 350 m μ , vielmehr einen gleichmässigen Anstieg der Absorption mit abnehmender Wellenlänge.

Es sei bemerkt, dass die Versuchsansätze infolge Materialmangels fast durchweg mit 20 mg-Mengen durchgeführt werden mussten. Es ist deshalb wohl möglich, dass sich kleine Anteile von Phenylchinoniminen in den Rohprodukten dem Nachweis entzogen.

Auch Versuche in sauren bzw. alkalischen Medien führten nicht zu definierten Produkten. Die Oxydationen des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins in wässrigen Lösungen verlaufen unter allen diesen Bedingungen unspezifisch; es finden Zersetzungsreaktionen statt.

b) Oxydationsversuche in absolutem Alkohol

α) Vergleich der Oxydationswirkungen von Bleidioxid und Quecksilberoxyd bei verschiedenen Temperaturen

Nach den Misserfolgen der Oxydationsversuche in wässrigen Medien wurde das 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin (XX) in absolutem Alkohol oxydiert. Als Oxydationsmittel wurden Quecksilberoxyd und Bleidioxid verwendet und ihre Einwirkung UV-spektroskopisch untersucht.

Abb. 26 zeigt die Wirkung von Quecksilberoxyd nach 10 Min./25°, 2 Stdn./25° und zusätzlich 2 Stdn./80°. Während sich bei Zimmertemperatur das Verhältnis der Extinktionen von Maximum zu Minimum langsam verringert, tritt nach Einwirkung bei Siedetemperatur eine neue Absorption mit einem breiten Plateau zwischen 328 und 340 mμ auf.

Die intensivere Einwirkung von Bleidioxid nach 10 Min./25°, 2 Stdn./25° und zusätzlich 2 Stde./80° zeigt Abb. 27. Hier ist am Ende der Reaktion das Maximum des Ausgangsmaterials verschwunden, doch deutet der Verlauf der Kurve auf eine uneinheitliche Reaktion hin.

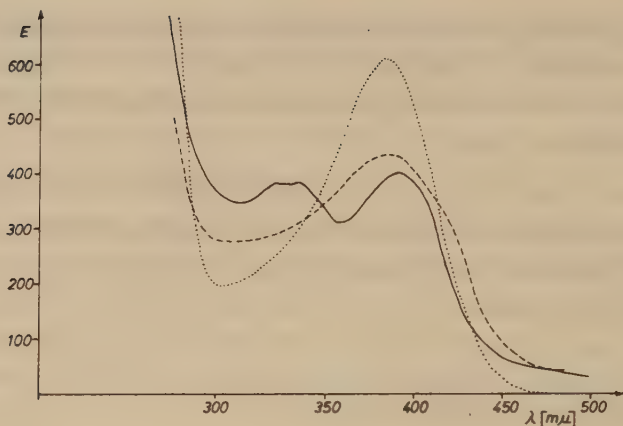


Abb. 26 Änderung des UV-Spektrums des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins nach Einwirkung von Quecksilberoxyd in Alkohol
 10 Min./25°, ---- 2 Stdn./25°,
 — zusätzl. 2 Stdn./80°

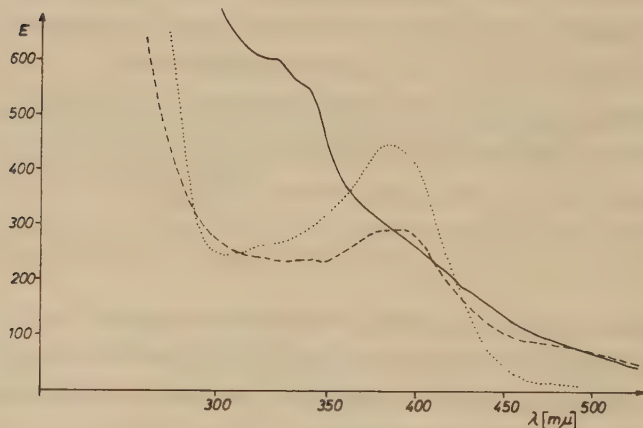


Abb. 27 Änderung des UV-Spektrums des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins nach Einwirkung von Bleidioxid in Alkohol
 10 Min./25°, ---- 2 Stdn./25°,
 — zusätzl. 1 Stde./80°

β) Chromatographische Trennung und UV-Spektren der Fraktionen

In einem grösseren Ansatz wurde 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorid 3 Stdn. lang in siedendem Alkohol mit Bleidioxid behandelt und das Oxydationsprodukt an einer Kieselgelsäule aufgetrennt. Die UV-Absorptionen der einzelnen Fraktionen sind aus Tabelle 3 ersichtlich. Die dort aufgeführten Werte zeigen, dass die Oxydation unter diesen Bedingungen nicht einheitlich verläuft. Die Chromatographie unter Verwendung wasserfreier Lösungsmittel liess keine eindeutig definierten Produkte gewinnen.

Nun wurden die Fraktionen Q bis T, die wegen ihrer relativ hohen Extinktionen zwischen 310 und 350 mμ am ehesten eine Phenylchinonimin-Struktur erwarten liessen, zusammen nochmals an Silicagel chromatographiert.

In Abb. 28 zeigt die Kurve 0 das UV-Spektrum des Ausgangsmaterials Q-T. Mit schwach polaren Lösungsmitteln (Benzol, Chloroform) lief ein gelbes, spektroskopisch nicht definiertes Eluat voraus (Kurve 5), was auf Zersetzungen während der Trennung hindeutet. Die folgenden Fraktionen (Kurven 6-10) absorbieren zwar zwischen 300 und 350 mμ, doch sprechen die Kurven nicht für einheitliche, stabile Substanzen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bei der dreistündigen Oxydation des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins mit Bleidioxid in siedendem Alkohol eine grosse Menge schwach polarer Zersetzungsprodukte entstand. Nur ein geringer Teil des Rohproduktes zeigte Absorptionen im Bereich 310-350 mμ. Daneben trat nach der ersten Chromatographie noch die Bande des Ausgangsmaterials bei 390 mμ auf; sie konnte durch Rechromatographieren entfernt werden. Eine chromatographisch einheitliche, spektroskopisch definierte Substanz wurde nicht gewonnen.

Verkürzte man die Oxydationszeit auf eine Stunde, so traten im wesentlichen die gleichen Verhältnisse auf, doch liess sich chromatographisch noch Ausgangsmaterial auffinden.

Tabelle 3

UV-Absorptionen der ersten Kieselgelchromatographie in $m\mu$

A, B (Benzol)	-	-	-
C (Benzol)	-	-	-
D "	-	330 (1 370)	390 (1 610)
G (Chlf.-A. 10:1)	-	338 (4 060)	395 (1 520)
H "	296 (6 100)	337 (6 040)	392 (4 140)
I "	300 (7 130)	330 (7 550)	[390 (2 300)]
K (Chlf.-A. 5:1)	302 (6 770)	327 (8 160)	[390 (2 200)]
L "	302 (6 340)	327 (7 640)	[340 (7 350)]
M "	-	327 (2 110)	340 (6 700)
N "	-	325 (4 380)	380 (3 290)
O "	-	328 (2 600)	387 (1 700)
P "	-	328 (2 600)	387 (5 130)
Q "	-	328 (1 900)	385 (1 250)
R "	295 (5 150)	328 (5 630)	385 (1 800)
S "	-	328 (4 200)	385 (0 800)
T "	-	328 (2 280)	385 (2 800)
		342 (2 180)	385 (2 700)
			385 (1 600)

Die in der alphabetischen Reihenfolge nicht aufgeführten Fraktionen wurden wegen ihres geringen Farbstoffgehaltes nicht gemessen.

Die Extinktionsangaben (in Klammern) haben nur Vergleichswert innerhalb einer Fraktion.

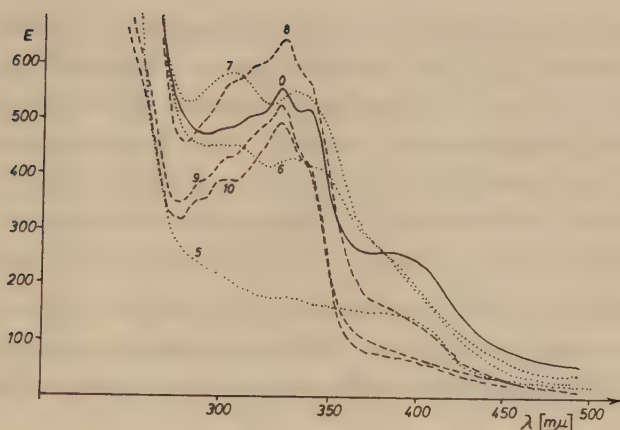


Abb. 28 Rechromatographie der Fraktionen Q bis T (—) an Kieselgel: Fraktionen 5-7, — — — Fraktionen 8-10

Das Auftreten von Ausgangsmaterial neben Zersetzungsprodukten gab Anlass, die Bedingungen der Oxydation nochmals zu ändern.

c) Oxydationen in Tetrahydrofuran

α) Oxydation mit Bleidioxyd bei 35°

Als inertes Lösungsmittel wurde absolutes Tetrahydrofuran gewählt und das 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin (XX) 14 Stunden lang mit Bleidioxyd bei 35° geschüttelt. Danach zeigte das Spektrum des Trockenrückstandes in Äthanol die Absorptionen [302 mμ (0.633)], 328 mμ (0.600), 342 mμ (0.540). Diese Absorptionskurve war der Kurve der vereinigten besten Fraktionen Q bis T (Abb. 28, Kurve 0) sehr ähnlich, zeigte jedoch nicht mehr die Bande des Ausgangsmaterials bei 390 mμ. Die hier angewandten Versuchsbedingungen bedeuteten also einen Fortschritt in Richtung auf ein einheitliches Produkt.

β) Oxydation mit Sauerstoff

Auf Grund der Beobachtung, dass sich Lösungen von 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin (XX) in Tetrahydrofuran bei längerem Stehen an der Luft rötlich verfärben und einen rotbraunen Niederschlag abscheiden, wurde in eine solche Lösung Sauerstoff eingeleitet. Das UV-Spektrum des Niederschlages wies einen neuen Kurventyp auf: [266 mμ (0.280)], 400 mμ (0.165) mit einem Minimum im Bereich der Phenylchinoniminabsorption bei 330 mμ. Diese neue Absorptionskurve erinnert in ihrem Verlauf an ein Phenoxazon-Spektrum.

Nach weiterem Einleiten von Sauerstoff verschwanden in den UV-Spektren die Banden des Ausgangsmaterials. Die Absorptionskurven stiegen mit abnehmender Wellenlänge an, ohne dass charakteristische Maxima auftraten.

γ) Oxydation mit Bleidioxid bei Zimmertemperatur

Die Beobachtungen bei der Bleidioxidoxydation in Tetrahydrofuran und die Feststellung, dass in Alkohol schon bei 80° grosse Mengen von Zersetzungsprodukten auftraten, führten zur Oxydation des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins (XX) in Tetrahydrofuran mit Bleidioxid bei 25°. Die Oxydationszeit betrug 60 Stunden. Die Tetrahydrofuranlösung des Oxydationsproduktes ist tief rot. Der Rückstand hatte nach Abziehen des Lösungsmittels zunächst dieselbe Farbe, wurde jedoch beim Trocknen ockergelb bis braun, wobei sich die Löslichkeit in Tetrahydrofuran stark verminderte.

Abb. 29 zeigt die UV-Spektren der roten Lösung des Oxydationsproduktes in Tetrahydrofuran, der Lösung des gelbbraunen Trockenrückstandes in Tetrahydrofuran und in absolutem Alkohol.

Die Papierchromatographie des Oxydationsproduktes im System Butanol-Eisessig-Wasser zeigte eine gelbe Substanz mit R_f 0.77 und eine blass rötlichgelbe Substanz mit R_f 0.82. Das 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorid hatte unter den gleichen Bedingungen zwei gelbe Flecken, R_f 0.41 und R_f 0.48.

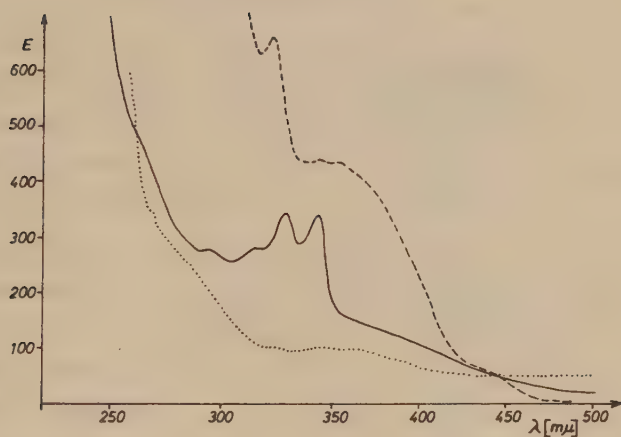


Abb. 29 UV-Spektren des Oxydationsproduktes aus 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin mit Bleidioxid in Tetrahydrofuran:

- Reaktionslösung in THF
- Trockenrückstand in THF
- Trockenrückstand in Äthanol

Abschliessend lässt sich zu diesen Befunden sagen, dass eine einheitlich verlaufende Oxydation des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins am ehesten in einem wasserfreien, inerten Lösungsmittel mit Bleidioxid bei Zimmertemperatur möglich ist. Das unter diesen Bedingungen entstandene Oxydationsprodukt zeigt im UV-Spektrum, Abb. 30, zwei charakteristische Absorptionsbanden bei 328 und 343 mμ, also in dem Bereich, in welchem Phenylchinonimine ihre charakteristischen Banden aufweisen.

Eine weitere Charakterisierung des Oxydationsproduktes muss späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, da kein 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin als Ausgangsmaterial mehr zur Verfügung stand und dessen Neusynthese im zeitlichen Rahmen dieser Arbeit nicht mehr möglich war.

Zusammenfassung

Ausgehend von der 3-Hydroxy-5-methyl-benzoesäure (XXIV) war M. Däuble¹⁵ die Darstellung von 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXVIII) sowie die Isolierung von zwei Nitroderivaten gelungen. Im Anschluss daran wurde die Isolierung und Strukturaufklärung von drei Mononitroderivaten des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons durchgeführt¹⁶.

In der vorliegenden Arbeit wird die Nitrierung von 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon in verschiedenen Medien beschrieben. Dabei wurden neben den drei Mononitroderivaten das 2.4.6-Trinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXIV) und zwei Dinitroderivate neu dargestellt. Die UV- und IR-Spektren dieser Verbindungen werden diskutiert.

Die Synthese des durch Substituenteneffekte stark benachteiligten 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons (XXXI) als bevorzugtes Isomeres wurde durch Variation der Nitrierbedingungen und säulenchromatographische Trennung erreicht.

Die Möglichkeiten der Kondensation von 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXI) mit Glyoxylsäure wurden untersucht. Als bester Weg zur Darstellung der 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII) erwies sich eine modifizierte Perkin-Kondensation.

Die Ammoniakalanlagerung an die letztgenannte Verbindung führte zum 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylalanin (XXXVIII), das durch Hydrierung in 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin (XX) überführt wurde.

Die Oxydation des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins verläuft in wasserhaltigen Medien unspezifisch, es finden Zersetzungsreaktionen statt. In absolutem Tetrahydrofuran entsteht ein gelbbrauner Farbstoff, der im UV-Absorptionsbereich der Phenylchinonimine zwei Absorptionsbanden bei 328 und 343 m μ aufweist.

Experimenteller Teil

Darstellung von Acetylbrenztraubensäuremethylester (XXII)

Nach E. Berner und S. Laland^{22,15}.

In einem Rundkolben mit Rückflusskühler werden portionsweise 160 g Natrium in 5 l abs. Methanol gelöst. Nach dem Abkühlen giesst man die Lösung in einen 10 l-Stutzen und versetzt unter intensivem Rühren zuerst mit 1 kg Oxalsäure-diäthylester (6.85 Mol), darauf mit 400 g Aceton (6.9 Mol). Die Zugabe und Durchmischung der beiden Reaktionspartner muss rasch erfolgen, weil schon nach wenigen Minuten das Natriumsalz des Acetyl-brenztraubensäure-methylesters (XXII) auskristallisiert und das Reaktionsgemisch zu einem dicken, weissen Kristallbrei erstarrt. Man lässt einige Stunden stehen und presst unter Verwendung einer Filterpresse das Lösungsmittel ab. Das erhaltene Rohprodukt wird unverzüglich weiterverwendet. Ausbeute praktisch quantitativ.

Darstellung von 3-Methyl-4-methoxy-oxalyl-5-hydroxy-5-carboxy-cyclohexen-2-on-1 (XXIII)

Abgeänderte Vorschrift nach E. Berner und S. Laland^{22,15}.

Das Natriumsalz des Acetylbrenztraubensäure-methylesters löst man unter Rühren in 2 l 10proz. Essigsäure. Die tiefbraune, klare Lösung wird unter weiterem Rühren mit 50proz. Schwefelsäure versetzt, bis der pH-Wert etwa 2.5 beträgt. Die Lösung erstarrt zu einem Brei von farblosen Kristallen, die nach längerem Stehen abgesaugt und mit wenig Eiswasser gewaschen werden. Das Filtrat wird mit konz. Schwefelsäure nachgesäuert. Unter Eiskühlung fällt weiteres Kristallisat an. Ausbeute 76-80 % der Theorie (2.6 Mol). Aus Isopropyläther kristallisieren farblose Nadeln vom Schmp. 83-85°.

Darstellung von 3-Hydroxy-5-methyl-benzoesäure (XXIV)

In Anlehnung an E. Berner und S. Laland^{22,15}.

600 g Bariumoxyd werden in 4 l heissem Wasser gelöst und nach Filtrieren gekühlt. Zu dem eiskalten Kristallbrei fügt man unter Rühren das rohe Cyclohexenonderivat, das mit dem Bariumhydroxyd mit gelb-oranger Farbe in Lösung geht. Auf dem Wasserbad wird unter weiterem ständigem Rühren langsam erwärmt, insgesamt 2-3 Stunden. Dabei scheidet sich Bariumoxalat ab.

Nach Abkühlen wird mit konz. Salzsäure versetzt, bis die Lösung bei pH 2-3 violett wird. Nach dem Absaugen werden Filtrat und Rückstand für sich 2-3 mal mit je 1 l Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherextrakte werden mit Calciumchlorid getrocknet, der Äther abgedampft.

Ausbeute 33.6 % d. Th. (1.15 Mol), bezogen auf Oxalsäurediäthylester, Zers. P. 207° (aus Wasser).

Darstellung von 3-Acetoxy-5-methyl-benzoesäure (XXV)

In Anlehnung an F. D. Chattaway²³.

Zu einer Lösung von 125 g 3-Hydroxy-5-methyl-benzoesäure (XXIV) (0.82 Mol) in 1.5 l 2n Natronlauge, mit Eisstücken gekühlt, gibt man unter Rühren 100 ml Acetanhydrid. Dann wird dem Reaktionsgemisch eine Probe von 10 ml entnommen, mit Salzsäure angesäuert und durch Reiben und Kühlen zur Kristallisation gebracht. Der Hauptansatz wird mit ca. 150 ml konz. Salzsäure neutralisiert, mit den gewonnenen Kristallen angeimpft und tropfenweise mit konz. Salzsäure angesäuert, bis die Trübung eben bestehen bleibt. Auf diese Weise wird vermieden, dass sich das Acetylierungsprodukt ölig abscheidet. Nach 10stündigem Stehen bei 0° wird abgesaugt, mit wenig Eiswasser gewaschen und im Vakuum über Kaliumhydroxyd und Phosphorpentoxyd getrocknet. Ausbeute 95 % d. Th. (0.78 Mol), Schmp. 105-107° (aus Benzol).

Darstellung von 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXVIII)

In Anlehnung an H. G. Walker und C. R. Hauser^{24,15}.

a) Darstellung von 3-Acetoxy-5-methyl-benzoylchlorid (XXVI)

Ein Gemisch von 127 g 3-Acetoxy-5-methyl-benzoesäure (XXV) (0.66 Mol) und 100 ml Thionylchlorid (0.38 Mol) (über Leinöl destilliert) wird 2 Stunden lang auf dem Wasserbad erwärmt. Aus der klaren Lösung wird das überschüssige Thionylchlorid im Vakuum abdestilliert. Durch Rektifikation bei Sdp. 132-136°/2 mm gewinnt man eine beim Abkühlen kristallisierende Masse. Schmp. 39-42°.

Ausbeute 92 % d. Th. (0.61 Mol). (Die Darstellung einschliesslich Rektifizieren sollte in 1 Tag ausgeführt werden, beginnend mit der Destillation des Thionylchlorids über Leinöl).

b) Darstellung von Äthoxy-magnesium-malonester

Unter Feuchtigkeitsausschluss werden 18 g mit Äther entfettete Magnesiumspäne mit 20 ml abs. Äthanol und einigen Tropfen Tetrachlorkohlenstoff übergossen. Nach Beginn der Reaktion gibt man 200 ml abs. Äther so zu, dass dieser stets lebhaft siedet. Ohne Unterbrechung wird nun eine Mischung von 120 g Malonsäurediäthylester, 50 ml abs. Alkohol und 70 ml abs. Äther so schnell zugetropft, dass das Sieden erhalten bleibt. Wenn nötig, wird auf dem Wasserbad erwärmt. Anschliessend erhitzt man noch bis zur völligen Lösung des Magnesiums, maximal 3 Stunden.

c) Darstellung von 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXVIII)

Zur klaren Lösung des Äthoxy-magnesium-malonesters tropft man unter kräftigem Rühren eine Lösung von 140 g 3-Acetoxy-5-methyl-benzoylchlorid (XXVI) (0.66 Mol) in 200 ml abs. Äther. Nach zweistündigem Erhitzen unter Rückfluss auf dem Wasserbad zersetzt man mit 1 l kalter

2n Schwefelsäure, extrahiert mit Äther und wäscht mit Wasser. Der Äther wird abdestilliert und der Rückstand mit einem Gemisch von 150 ml Eisessig, 200 ml Wasser und 20 ml konz. Schwefelsäure 8-10 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Dann wird mit 100 ml Wasser verdünnt und der gebildete Essigester auf dem Wasserbad abdestilliert. Beim Kühlen kristallisiert 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXVIII) in Nadeln aus. Weiteres Kristallisat gewinnt man aus dem Filtrat durch vorsichtiges Neutralisieren mit konz. Natronlauge. Zur Reinigung wird nach dem Trocknen aus Benzol oder Essigester/Petroläther umkristallisiert. Schmp. 122-123°, Ausbeute 47.5 % d. Th. (0.314 Mol).

Nitrierung von 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon in Äther

20 g 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon (0.133 Mol) werden in 150 ml abs. Äther suspendiert und das Gemisch unter Feuchtigkeitsausschluss auf -20° gekühlt. Dazu gibt man auf einmal ein Gemisch von 50 ml abs. Äther und 20 ml rauchender Salpetersäure, das bei -60° hergestellt wurde. Man rührt so lange in der Kältemischung bei -15 bis -10° Innentemperatur, bis sich alles Ausgangsmaterial gelöst hat und sich gelbe Kristalle abscheiden. (Dauer ca. 7 Stunden) Dann wird auf Eis gegossen, die ätherische Lösung zur Entfernung rotgefärbter Verunreinigungen mehrmals zunächst mit 10proz. Natriumacetatlösung extrahiert und dann mit Sodalösung ausgeschüttelt; diese wird mit Essigsäure angesäuert. Dabei scheidet sich das Gemisch der Nitroderivate meist ölig ab, erstarrt aber bald. Ausbeute an rohem Gemisch der isomeren Nitroverbindungen 63 % d. Th.

Trennung der isomeren Nitroverbindungen durch Kristallisation

2.75 g Gemisch der Nitroderivate des 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenons werden in ca. 80 ml Benzol heiss gelöst. Das bei Zimmertemperatur anfallende Kristallisat wird aus Benzol weiter umkristallisiert.

1. Fraktion: 6-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon, (XXIX)
gelbe Kristallnadeln, Schmp. 148-150°.
Ausbeute 1.03 g entsprechend 23.3 % d. Th. bezogen auf
3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon.

Das Filtrat wird auf die Hälfte eingeeengt. In der Kälte kristallisiert die

2. Fraktion: 4-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXX),
elfenbeinfarbene Kristallnadeln, aus Petroläther
(90-100°) Schmp. 148-150°.
Ausbeute 0.8 g entsprechend 18.5 % d. Th.

Der Trockenrückstand der Mutterlauge wird mehrmals aus Petroläther
(90-100°) umkristallisiert und ergibt die

3. Fraktion: 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXI),
gelbe Kristalldrusen, Schmp. 66-67°.
Ausbeute 0.16 g entsprechend 3.8 % d. Th.

Nitrierungen in Acetanhydrid

2.4.6-Trinitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoesäure (XXXII)

5 g (33 mMol) 3-Hydroxy-5-methyl-benzoesäure werden in 40 ml Acetanhydrid gelöst. Unter Rühren und Ausschluss von Feuchtigkeit wird im Laufe einer halben Stunde eine bei 0° bereitete Mischung von 9 ml konz. Salpetersäure (D = 1.52) und 6 ml Acetanhydrid zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird mit Eis-Kochsalz auf +10 bis +20° gekühlt, anschliessend eine halbe Stunde bei 10° stehen gelassen. Dann giesst man auf Eis, lässt 2 Stunden stehen und extrahiert mehrmals mit Äther. Die vereinigten Ätherextrakte werden mit Wasser gewaschen, das Waschwasser mit Äther rückextrahiert. Nach Trocknen mit Natriumsulfat wird die ätherische Lösung zur Trockne gebracht und der Rückstand 24 Stunden im Vakuumexsikkator über Kaliumhydroxyd aufbewahrt. Das ockergelbe Kristallpulver wird unter Zusatz von Carboraffin

wiederholt aus Benzol oder Wasser umkristallisiert, wobei man längeres Erhitzen vermeidet. Blassgelbe Kristalle, Zers.P. 189-190°.

$C_8H_5N_3O_9$ (287.1)

Ber. C 33.47 H 1.76 N 14.64

Gef. C 32.19 H 2.1 N 14.21

2.4.6-Trinitro-m-kresol entsteht beim Erhitzen des sauren Rückstandes aus dem vorstehenden Ätherextrakt durch Einleiten von Wasserdampf. Der Trockenrückstand der Destillation wird erneut mit Äther extrahiert und zur Trockne gebracht. Die aus Wasser zuerst kristallisierenden Anteile liefern beim weiteren Umkristallisieren aus Wasser 2.4.6-Trinitro-m-kresol, Schmp. 106-108°.

Anstelle der fraktionierten Kristallisation kann auch säulenchromatographisch mit Kieselgel gearbeitet werden, das vorher durch Schütteln mit 10 % abs. Methanol teilweise deaktiviert wird. Durch Entwickeln mit Benzol-Petroläther 1:1 erhält man nach Abtreiben des Lösungsmittels ein gelbkristallisierendes Öl; aus Wasser gelbe Kristalle, Schmp. 106-108°.

Nitrierung von m-Kresol

10.5 ml (0.1 Mol) m-Kresol werden in einem Dreihalskolben in 60 ml Acetanhydrid gelöst und unter Rühren und Feuchtigkeitsausschluss eine bei 0° hergestellte Mischung von 25 ml rauchender Salpetersäure ($D = 1.52$) (0.6 Mol) und 25 ml Acetanhydrid innerhalb einer Stunde in Anteilen zugegeben. Die Temperatur beträgt 20-30°. Anschliessend wird noch eine Stunde bei gleicher Temperatur weiter gerührt, dann auf Eis gegossen und 2 Stunden später mehrmals mit je 100 ml Benzol extrahiert. Nach Abtreiben des Lösungsmittels wird der dunkelbraune ölige Rückstand aus Wasser dreimal umkristallisiert: Schmp. 106-108°.

Die Identität dieser Verbindung mit der durch Decarboxylierung aus 2.4.6-Trinitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoesäure entstandenen wurde durch die Übereinstimmung der IR-Spektren und durch den Mischschmelzpunkt, der keine Depression zeigte, bewiesen.

2.4.6-Trinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXIV)

5.8 g (38.6 mMol) 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXVIII) werden in 50 ml Acetanhydrid gelöst. Unter Rühren und Ausschluss von Feuchtigkeit wird im Laufe von 50 Min. eine bei 0° bereitete Mischung von 9 ml konz. Salpetersäure (D = 1.52) und 6 ml Acetanhydrid zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird dabei mit Eis/Kochsalz auf +10° bis +15° gehalten und insgesamt 1.5 Stunden bei dieser Temperatur belassen, wobei sich schliesslich helle Kristalle abscheiden. Dann giesst man auf Eis, lässt 2 Stunden stehen und extrahiert mehrmals mit Äther. Die vereinigten Ätherextrakte werden zweimal mit 1/5 Vol. Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel abgezogen und der braune, sirupöse Rückstand in einer flachen Schale im Vak.-Exsikkator über Kaliumhydroxyd von der restlichen Essigsäure befreit. Durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Benzol erhält man das 2.4.6-Trinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon, Schmp. 195-196°. Ausbeute 23 % d. Th.

$C_9H_7N_3O_8$ (285.2)	Ber.	C 37.95	H 2.47	N 14.74
	Gef.	C 37.89	H 2.31	N 14.55

Nitrierungen in Acetanhydrid-Eisessig

Dinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenone

5 g 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon (33.3 mMol) werden in 30 ml Eisessig und 5 ml Acetanhydrid unter Rühren und Feuchtigkeitsausschluss suspendiert. Beim Kühlen mit Eis-Kochsalzmischung fällt ein dicker Kristallbrei aus, der sich jedoch sehr schnell löst, wenn man eine unter starker Kühlung (-20°) hergestellte Mischung von 10 ml Eisessig, 2.2 ml rauchender Salpetersäure (D = 1.52) (52.5 mMol entsprechend 1.58facher molarer Menge) und 10 ml Acetanhydrid zutropft; Dauer 45 Minuten. Die rotbraune Lösung wird unter Rühren insgesamt 3 Stunden lang bei 10° gehalten, danach 14 Stunden bei gleicher Temperatur im Kühlschrank stehen gelassen. Giesst man die Mischung danach in ca. 200 ml Eiswasser, so fällt ein gelber Niederschlag aus,

der nach 2stündigem Stehen abgesaugt wird. Das Filtrat "F1" enthält die Mononitroderivate.

Nach Trocknen des Niederschlages über Kaliumhydroxyd und Phosphorpentoxyd im Vakuum wird mit 25 ml Benzol heiss extrahiert, nach Abkühlen auf Zimmertemperatur abgesaugt und zweimal mit Benzol nachgewaschen. Aus dem Filtrat "F2" wird, wie weiter unten beschrieben, ein anderes Isomeres gewonnen. Der fast farblose Filterrückstand wird aus 80-100 ml Benzol umkristallisiert und liefert 0.6 g entsprechend 7.5 % d. Th. Dinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon, Schmp. 229-231° (aus Toluol, Methanol/Wasser und wieder Toluol umkristallisiert).

$C_9H_8N_2O_6$ (240.2)	Ber.	C 45.00	H 3.36	N 11.66
	Gef.	C 45.28	H 3.50	N 11.45

Das Filtrat "F2" des Benzolextraktes aus dem Rohprodukt wird auf ca. 10 ml eingeengt. Im Kühlschrank erscheinen gelbe Kristalle, die aus Tetrachlor-Kohlenstoff umkristallisiert 0.4 g entsprechend 5 % d. Th. Dinitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon liefern. Schmp. 159-161° (aus Tetrachlorkohlenstoff, Methanol/Wasser und wieder Tetrachlor-Kohlenstoff umkristallisiert).

$C_9H_8N_2O_6$ (240.2)	Ber.	C 45.0	H 3.36	N 11.66
	Gef.	C 45.31	H 3.34	N 11.49

Das wässrig-saure Filtrat "F1" wird viermal mit je 100 ml Chloroform extrahiert, der Extrakt mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abgetrieben. Zur Entfernung der mitgeschleppten Essigsäure wird zweimal mit einem Überschuss Methanol $\frac{1}{2}$ Stunde am Rückfluss erhitzt und am Vakuum-Umlaufverdampfer die Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wird nach Trocknen im Vakuum-Exsikkator über Kaliumhydroxyd in ca. 100 ml Benzol heiss gelöst. In der Kälte fällt 7.6 % 6-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon in schwachgelben Kristallnadeln aus, Schmp. 148-150°.

Aus dem Filtrat wird mittels fraktionierter Kristallisation (wie vorstehend beschrieben) oder durch chromatographische Trennung (wie nachstehend ausgeführt) 2 % 4-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon, Schmp. 148-150° und 4.4 % 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon gewonnen, Schmp. 66-67° (aus Benzin Sdp. 90-100°).

Darstellung von 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXI)
als bevorzugtes Isomeres

26.5 g (0.176 Mol) 3-Hydroxy-5-methyl-acetophenon werden in einem Dreihalskolben unter Feuchtigkeitsausschluss und mechanischer Rührung in einer Mischung von 170 ml Eisessig und 16 ml Acetanhydrid suspendiert und mit Eis-Kochsalzmischung auf +5° gekühlt.

Bei -20° wird eine Mischung von 55 ml Eisessig, 8.5 ml rauchender Salpetersäure (D = 1.52) und 55 ml Acetanhydrid hergestellt und bei 0° unter Feuchtigkeitsausschluss aufbewahrt. Diese Nitriermischung gibt man in Anteilen - um die bereits bei Zimmertemperatur eintretende Zersetzung zu vermeiden - in einen Tropftrichter, aus dem sie langsam in den Reaktionskolben tropft, dessen Inhalt auf +10° gehalten und intensiv gerührt wird. Die Zugabe der gesamten Nitriermischung soll 3.5-4 Stunden dauern. Nach beendeter Zugabe wird noch 4 Stunden lang bei gleicher Temperatur weiter gerührt und die Reaktion durch Stehen im Kühlschrank über Nacht beendet. Danach giesst man die Reaktionsmischung in 2 l Eiswasser und extrahiert nach 2stündigem Stehen dreimal mit 400 ml Benzol. Der wässrige Rückstand wird weiter dreimal mit 300 ml Äther extrahiert. Der Benzolextrakt wird mit Natriumsulfat getrocknet, im Vakuum-Umlaufverdampfer vom Lösungsmittel befreit, die Essigsäurereste durch Trocknen im Vakuum über Kaliumhydroxyd entfernt. Der Trockenrückstand des Benzolextraktes beträgt 21.2 g rohes Gemisch von isomeren Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenonen. Der Trockenrückstand des auf gleiche Weise behandelten Ätherextraktes beträgt 10.8 g.

Zusammen beträgt die Rohausbeute 32 g, entsprechend 93 % d. Th. berechnet auf Mononitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon.

Die säulenchromatographische Trennung erfolgt an der 30- bis 40fachen Gewichtsmenge sauren Aluminiumoxyds Woelm, Aktivität IV, oder Silicagels Merck, das durch Zumischen von 10 % abs. Methanol partiell deaktiviert wird. Das Adsorbens wird in Benzol suspendiert in ein 6-8 cm weites, 1.20 m langes Chromatographierohr eingeschlemmt.

Der Benzolextrakt-Trockenrückstand wird in 50 ml heissem Benzol aufgenommen und mehrere Stunden bei 10° stehen gelassen. Dabei kristallisiert ein Teil des 6-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons aus.

Das Filtrat wird bei 25-30° auf die Hälfte eingengt und auf die Säule gegeben. Mit 2 l Benzol und anschliessend 1 l Chloroform wird das 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXI) eluiert, das nach Abziehen der Lösungsmittel aus Benzin (Sdp. 90-110°) umkristallisiert wird. Schmp. 66-67°, Ausbeute 7-7,6 g entsprechend 20-22 % d. Th.

Anschliessend wird mit 500 ml Chloroform-Essigester 1:1 und 500 ml Essigester das 4-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXX) eluiert und aus viel Benzin (Sdp. 90-110°) umkristallisiert: Schmp. 148-150°, Ausbeute 3.1-3.5 g entsprechend 9-10 % d. Th.

Aus dem Rückstand dieser Benzinextraktion, aus dem Trockenrückstand des Ätherextraktes des Nitrieransatzes und aus einem weiteren Liter Essigestereluat von der Säule gewinnt man durch Umkristallisieren aus Benzol 6.2-6.9 g 6-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXIX) vom Schmp. 148-150° entsprechend 18-20 % d. Th.

(Aus der Mutterlauge lässt sich noch etwas 4-Nitro-Verbindung gewinnen.)

Darstellung der 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII)

a) Analog A. Butenandt, G. Hallmann und R. Beckmann ²⁸

9 g scharf getrocknetes Bariumglyoxalat nach O. Doebner ³³ werden mit einer Lösung von 2.0 ml konz. Schwefelsäure in 5.5 ml Eisessig, der über Phosphor-pentoxyd getrocknet und destilliert wurde, unter Wasserkühlung und Feuchtigkeitsausschluss zu einem gleichmässigen Brei vermischt. Dazu werden 0.65 g 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXI) in 1.5 ml mittels Phosphor-pentoxyds absolutiertem Acetanhydrid gegeben. Das Reaktionsgemisch wird 3 Tage lang im Ölbad auf 70° erwärmt. Man erhält eine tief dunkelbraune Lösung über einem hellen Bodensatz, die man nach Abkühlen mit 10 ml Wasser versetzt und nach 1 Stunde vom Bariumsulfat absaugt. (Das Filtrat enthält noch Sulfationen.) Es wird mit wenig Wasser nachgewaschen und das Filtrat mit ca. 70 ml Chloroform in 6 Anteilen extrahiert. Der Chloroformextrakt wird zweimal mit wenig Wasser gewaschen, das Waschwasser zweimal mit Chloroform rückextrahiert. Die vereinigten Chloroformauszüge werden nach Trocknen mit Natriumsulfat im Vakuum bei 20-30° zur Trockene gebracht. Die Essigsäure entfernt man möglichst weitgehend im Ölvakuum mit tiefgekühlter Vorlage und anschliessend im Vakuum-Exsikkator über Kaliumhydroxyd. Von der zitierten Vorschrift ²⁸ abweichend wird der Rückstand in ca. 8 ml Äthanol heiss gelöst, mit Carboraffin behandelt und dem Filtrat heisses Wasser bis zur beginnenden Trübung zugesetzt. Bei -10° fällt die 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII) als grüngelbes, feines Kristallpulver aus. Ausbeute 65 mg, entsprechend 7.8 % d. Th. Schmp. 192-193° (aus Toluol).

C₁₁H₉O₆N (251.2)

Ber. C 52.59 H 3.61 N 5.58

Gef. C 52.58 H 3.61 N 5.46

b) Ansatz und Aufarbeitung wie unter a), Reaktionstemperatur 70°, Reaktionszeit 24 Stunden. Ausbeute 5 % 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure, 20 % 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (Ausgangsmaterial).

c) Ansatz und Aufarbeitung wie unter a), Reaktionstemperatur 85°, Magnetrührung, Reaktionszeit 28 Stunden. Ausbeute 3 % 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure.

d) Ansätze mit Piperidinacetat

α) 4.4 g scharf getrocknetes, fein gepulvertes Natriumglyoxalat wurden in 8 ml abs. Äthanol aufgeschlemmt und unter Eiskühlung mit 1.1 ml konz. Schwefelsäure versetzt. Nach fünfstündigem Schütteln wurde durch eine Glasfritte vom Natriumsulfat abgesaugt. (Die Sulfatreaktion des Filtrates war negativ.) 4 g frisch destilliertes Piperidin in 6 ml abs. Äthanol wurden mit 2.8 g Eisessig unter Kühlen gemischt. 0.5 ml dieser Mischung wurden in die Lösung von 0.54 g 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenon in 2 ml abs. Alkohol und 3 ml abs. Dioxan gegeben, die sich dabei ockergelb färbte. Darauf wurde die Hälfte der obigen Glyoxylsäurelösung in drei Anteilen im Abstand von 6 Stunden zugegeben und die Reaktionsmischung 52 Stunden bei 45° gehalten. Sie trübte sich und färbte sich zunehmend dunkler. Nach beendeter Reaktion wurde die Lösung 12 Stunden im Kühlschrank aufbewahrt und das Filtrat von einer geringen Menge weissen Bodensatzes im Vakuum zur Trockne gebracht. Aus dem Benzolextrakt des braunen Sirups wurden 77 % Ausgangsmaterial isoliert.

β) Ansatz wie vorstehend, doch wurde die Glyoxylsäurelösung auf einmal zugegeben und die Reaktionsmischung unter Stickstoff im Ölbad 14 Stunden lang auf 100° erhitzt. Beim Eindampfen wurde ein dunkelbraunes Öl erhalten und mit 10 ml Äthanol heiss extrahiert. 130 mg eines braunen Pulvers blieben ungelöst (leicht löslich in Wasser, mit 2n Natronlauge keine Farbänderung,

Schmp. über 225°). Beim Abkühlen des Äthanolextraktes fiel wieder braune Substanz aus (nicht löslich in heissem Chloroform). Das Filtrat wurde zur Trockne gebracht. Aus dem Chloroformextrakt des Rückstandes wurden 12 % Ausgangsmaterial isoliert.

g) Darstellung des Natriumglyoxalats

200 g "Glyoxylsäure 74 %" der BASF werden in 390 ml Wasser gelöst und mit 500 ml alkoholfreiem Äther 2 Tage lang extrahiert. Nach 10stündigem Stehen im Kühlschrank wird der Ätherextrakt von ausgefallener Oxalsäure abgesaugt. Das Filtrat wird bei Zimmertemperatur von Äther befreit, die zurückbleibende wässrige Lösung auf 0° gekühlt und mit konz. Natronlauge vorsichtig auf pH 4 neutralisiert. Dabei darf die Temperatur 10-15° nicht übersteigen. Die fast neutrale Lösung von Natriumglyoxalat wird mit dem gleichen Volumen Aceton versetzt. Im Kühlschrank kristallisiert das Salz, das abgesaugt und zunächst mit wenig 50proz. Aceton, dann mit reinem Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet wird. Das so gereinigte Präparat hat einen Glyoxylsäuregehalt von etwa 94 %. Es kann durch Auflösen in 40° warmem Wasser (etwa fünffache Menge), filtrieren (Blaubandfilter) und Zugabe von Aceton umkristallisiert werden. Es enthält dann etwa 98.5 % Glyoxylsäure.

e) Kondensationsversuche mit Glyoxylsäureester

α) Herstellung des freien Glyoxylsäureesters

3 ml "Äthylhalbacetal des Glyoxylsäureäthylesters" BASF in 27 ml abs. Äther werden mit ca. 3 g Phosphorpentoxyd mehrere Stunden geschüttelt. (Wenn sich das Phosphorpentoxyd vollständig zusammengeballt hat, wird es erneuert.) Danach wird die Lösung über frischem Phosphorpentoxyd 12 Stunden stehen gelassen und nach Dekantieren sofort verwendet.

Eine Probe wurde von Äther befreit und das Phenylhydrazon hergestellt. Schmp. 128-130° (aus Äthanol).

Zur Herstellung des lösungsmittelfreien Glyoxylsäureäthylesters tropft man unter Eiskühlung Glyoxylsäureäthylester-Äthylalkoholat auf die gleiche Gewichtsmenge Phosphorpentoxyd (Molverhältnis etwa 1:1) und rührt die Mischung $\frac{1}{4}$ Stunde lang mit einem starken Glasstab durch. Dann wird die schwachgelbe Flüssigkeit vom zusammengeballten Trockenmittel abgegossen und unter Feuchtigkeitsausschluss kurzfristig weiterverwendet.

β) Ansätze mit Mineralsäure-Katalyse

0.54 g (3 mMol) 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenon wurden in 10 ml abs. Dioxan gelöst und 10 ml (ca. 6 mMol) der wie vorstehend frisch bereiteten ätherischen Lösung des Glyoxylsäureesters sowie 0.1 ml konz. Schwefelsäure zugesetzt.

Der Reaktionskolben trug einen Rückflusskühler und darauf einen absteigenden Kühler. Unter Feuchtigkeitsausschluss und magnetischer Rührung wurde im Ölbad langsam erwärmt und der Äther während einer halben Stunde abdestilliert. Anschliessend wurde 5 Stunden lang auf 115° erhitzt. Die Rückflusskühlung wurde so eingestellt, dass ein Teil des Dioxans überging, um das bei der erwarteten Kondensation entstehende Wasser mit Azeotrop Dioxan/Wasser, Sdp. 87.8° , zu entfernen. Anschliessend wurde das dunkelbraun gefärbte Reaktionsgemisch mit 5 ml abs. Dioxan und etwas Carboraffin 10 Min. lang bei 100° durchgerührt, heiss filtriert und am Umlaufverdampfer bei $45^{\circ}/12$ mm eingeengt. Der sirupöse Rückstand wurde mit einigen ml abs. Äther versetzt. Im Kühlschrank kristallisierte nach 36 Stunden ein grüngelbes Pulver, das sich nach dem Umkristallisieren aus Toluol als Ausgangsmaterial erwies (55%). Rückstand grünbraunes, zähflüssiges Öl.

540 mg 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenon in 8 ml abs. Dioxan wurden mit 0.6 g Glyoxylsäureester sowie mit 0.1 ml konz. Schwefelsäure versetzt und bei 25° 5 Tage lang gerührt. Der Ansatz wurde bei $50^{\circ}/2$ mm zur Trockne gebracht, der Rückstand aus Benzol umkristallisiert: ca. 30% Ausgangsmaterial, daneben 0.5 g braunschwarzes Harz.

540 mg 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenon in 10 ml abs. Dioxan wurden mit 0.1 ml konz. Schwefelsäure versetzt, unter Magnetührung und Rückfluss bei 50-60° 1 ml Glyoxylsäureester langsam eingetropft und insgesamt 4 Stunden lang bei dieser Temperatur gehalten. Aus der im Vakuum eingeengten Lösung kristallisierte in der Kälte 89 % Ausgangsmaterial.

7) Ansätze mit basischen Ionenaustauschern

Amberlite-Ionenaustauscher IRA 400 wurde in einem grossen Überschuss 5proz. Natronlauge 1.5 Stunden lang gerührt, wiederholt unter Dekantieren mit Wasser gewaschen, schliesslich abgesaugt, mit abs. Methanol und Äther gewaschen und im Vakuum-Exsikkator getrocknet. Mit dem so präparierten Austauscher wurden die folgenden Ansätze durchgeführt.

0.6 g IRA 400 wurden in 5 ml abs. Dioxan suspendiert und bei 80-85° unter Magnetührung eine Mischung von 540 mg (3 mMol) 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenon in 15 ml abs. Dioxan und 6 mMol Glyoxylsäureester in 10 ml abs. Äther langsam zugetropft, während der Äther abdestillierte. Nach 1.5 Stunden wurde auf 115° erhitzt und diese Temperatur 2.5 Stunden gehalten, wobei der grösste Teil des Dioxans überging. Die Reaktionsmischung stand über Nacht bei 25°, wurde dann vom Ionenaustauscher abgesaugt und dieser mit Aceton und abs. Methanol gewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der braune, sirupöse Rückstand wurde mit 30 ml Toluol versetzt. Es schied sich ein dunkel-rotbraunes Öl ab, das sich in siedendem Toluol nur teilweise löste. Nach Abkühlen wurde dekantiert, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Beim Umkristallisieren des sirupösen Rückstandes wurde eine geringe Menge Ausgangsmaterial isoliert.

1 g IRA 400 in 5 ml abs. Dioxan suspendiert wurde mit einer Lösung von 3 mMol 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenon in 10 ml abs. Dioxan versetzt und unter Magnetührung auf 80-90° erwärmt. Während 45 Minuten tropfte hierzu eine frisch bereitete Lösung von 6 mMol Glyoxylsäureester in 10 ml abs. Äther. Nach Abdestillieren des Äthers wurde die Temperatur auf 115° gestei-

gert und unter Rückfluss 14 Stunden lang beibehalten. Nach Abkühlen der Reaktionsmischung wurde vom Ionenaustauscher abgesaugt, der Austauscher mit 10 ml Essigester-Alkohol 1:1 gewaschen. Nach Entfernen der Lösungsmittel bei 50°/2 mm hinterblieb ein brauner, kristalliner Rückstand. Durch Umkristallisieren aus Toluol wurden 83 % Ausgangsmaterial erhalten.

0.6 g IRA 400 in 3 ml abs. Dioxan suspendiert, eine Lösung von 3 mMol 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenon in 5 ml abs. Dioxan und 6 ml Glyoxylsäureester in 10 ml abs. Äther wurden bei 25° 5 Tage lang intensiv gerührt. Wie vorstehend aufgearbeitet wurden aus dem Ansatz 85 % Ausgangsmaterial isoliert.

0.6 g IRA 400 in 3 ml abs. Dioxan und 3 mMol 2-Nitro-3-hydroxy-acetophenon in 5 ml abs. Dioxan wurden zusammen auf 30-40° erwärmt. Unter Rühren wurde frisch bereiteter Glyoxylsäureester langsam zugetropft, dann die Mischung bei 85° 5 Stunden lang weitergerührt. Beim Aufarbeiten wurde nur Ausgangsmaterial isoliert.

f) Darstellung der 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII) durch Perkin-analoge Kondensation

11 g scharf getrocknetes Bariumglyoxalat nach O. Doebner³³ (entsprechend 40 % = 16 mMol Glyoxylsäure, 44 mMol Ba) werden mit einer Mischung von 2.0 ml (36 mMol) konz. Schwefelsäure und 5.5 ml (96 mMol) über Phosphor-pentoxyd destilliertem Eisessig unter Eiskühlung und Feuchtigkeitsausschluss gleichmässig vermischt. Nach 1/2stündigem Stehen wird noch 1 g (10 mMol) frisch geglühtes Kaliumacetat dazugemischt.

Hierzu wird eine Lösung von 0.65 g (0.34 mMol) 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXI) in 1.5 ml über Phosphor-pentoxyd destilliertem Acetanhydrid gegeben und die Mischung unter Verschluss mit einem Calciumchloridrohr im Ölbad 3 Tage lang auf 80-85° erhitzt. Anschliessend lässt man das ockergelbe Reaktionsgut abkühlen, versetzt mit 30 ml Wasser und wartet 2 Stunden, bis das Kaliumacetat gelöst und das Acetanhydrid hydrolysiert ist. Schliesslich wird zentrifugiert, vom Bariumsulfat dekantiert und

abgesaugt, der Niederschlag noch viermal mit je 15 ml Wasser durchgeschüttelt, zentrifugiert und abgesaugt. Die wässrigen Filtrate werden im Vakuumumlaufverdampfer bei 25° zur Trockne gebracht; die Essigsäurereste entfernt man bei 2 mm Druck und tiefgekühlter Vorlage sowie im Vakuum-Exsikkator über Kaliumhydroxyd und erhält so das Rohprodukt.

Papierchromatographie des Rohproduktes

Je eine Probe vom Trockenrückstand des wässrigen Filtrates und der Waschwasser sowie 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon (XXXI) und 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII) als Vergleichssubstanzen wurden in den Systemen A: Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5 (Partridge)

B: Benzol-Eisessig-Wasser 4:4:2

C: Äthanol-konz. Ammoniak-Wasser 10:1:4

an Schleicher und Schüll-Papier Nr. 2043 a chromatographiert. Im System A zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Rf-Werte von Ausgangsmaterial und Endprodukt. Das zur Trennung von Nitrophenolen empfohlene⁴¹ System B liess die Substanzen mit der Lösungsmittelfront wandern.

Im System C zeigte sich eine gute Trennwirkung. Die beiden Proben des Rohproduktes verhielten sich gleich, sie spalteten in vier Komponenten auf. Die Rf-Werte waren:

Rohprodukt	0.15	0.48	0.60	0.75
	(gelbe Fluoreszenz)			
2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure		0.48		
2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon				0.75

Die Flecken der Benzoylacrylsäure-Derivate zeigen eine Schweifbildung. Die Fluoreszenz 0.15 ist nach oben und unten verwaschen. Alle anderen Flecke sind im Tageslicht gelb. Die relativ kleinen Flecke des Rohproduktes mit Rf 0.60 sind von den grossen Flecken Rf 0.48 nur wenig getrennt.

41) F. Cramer "Papierchromatographie" 1953

Verteilungschromatographie

100 g "Acidum silicicum Mallinckrodt" (100 mesh) der Fa. Serva, Heidelberg, werden mit 60 ml 80proz. wässrigem Methanol, das zuvor mit 400 ml Benzin (Sdp. 115-135°) als Oberphase ins Gleichgewicht gesetzt worden ist, in der Reibschale gleichmässig verrieben. Die noch trocken erscheinende Kieselsäure wird dann in einem Teil der Oberphase aufgeschlemmt und in ein Glasrohr von 3 cm Weite eingefüllt.

Das Rohprodukt wird in 3 ml Unterphase heiss gelöst bzw. suspendiert auf die Säule gebracht. Mit 800-1000 ml der Benzinoberphase wird zunächst das Ausgangsmaterial eluiert. Sein Anteil beträgt 50-55 % des eingesetzten Materials. Anschliessend werden durch Eluieren mit 800-1000 ml Benzol 195-210 mg 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII) gewonnen, entsprechend 23-25 % d. Th.

Analyse und Daten siehe S. 71.

6 a) Darstellung des 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylalanins (XXXVIII)

380 mg (0.51 mMol) 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylacrylsäure (XXXVII) werden in 8 ml 15proz. Ammoniak gelöst und unter Verschluss 3 Tage lang bei 20-25° stehen gelassen. Das orangerote Filtrat wird bei 30° im Umlaufverdampfer zur Trockne gebracht. Zur Hydrolyse des so entstandenen Ammoniumsalzes werden zweimal 10 ml Wasser zugesetzt und erneut im Vakuum zur Trockne gebracht. Das Präparat wird im Vakuum-Exsikkator über Phosphorpentoxyd von Ammoniakresten befreit.

Ausbeute 390-400 mg (96-98 % d. Th.) 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylalanin (XXXVIII), Schmp. 198-200°.

Zur Analyse wird das Hydrochlorid hergestellt: 36 mg 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylalanin werden in 1 ml abs. Äthanol aufgenommen und unter

Eiskühlung trockenes Chlorwasserstoffgas darüber geleitet, bis die Substanz unter schwacher Gelbfärbung klar gelöst ist. Dann versetzt man mit 30-40 ml abs. Äther und kühlt $\frac{1}{2}$ Stunde auf 0° , saugt dann ab und wäscht das Hydrochlorid mit abs. Äther. Nach Trocknen im Vakuum-Exsikkator über Kaliumhydroxyd erhält man 27 mg elfenbeinfarbenes Kristallpulver, entsprechend 90.5 % d. Th. 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylalanin-hydrochlorid, Zers.P. 185-186 $^{\circ}$.

$C_{11}H_{13}O_6N_2Cl$ (304.7)	Ber.	C 43.36	H 4.30	N 9.20
	Gef.	C 43.56	H 4.68	N 9.26

b) Darstellung des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins (XX)³⁹

348 mg (1.30 mMol) 2-Nitro-3-hydroxy-5-methyl-benzoylalanin werden in 35 ml abs. Äthanol gelöst, das 2 Äquivalente (2.6 mMol) trockenen Chlorwasserstoff enthält. Der Lösung werden 60 mg Palladiumkohle-Katalysator zugesetzt und die Mischung in einer Schüttelente etwa 8 Stunden lang hydriert, bis die theoretische Menge Wasserstoff aufgenommen ist. (Verbrauch berechnet: 98 ml, gemessen: 100 ml H_2)

Zur Trennung vom Katalysator wird das Reaktionsgemisch durch eine feinporige Glassinternutsche gesaugt, das Filtrat im Vakuumumlaufverdampfer zur Trockne gebracht. Nach 12stündigem Trocknen im Vakuum-Exsikkator über Kaliumhydroxyd wird das Salz in 2 ml chlorwasserstoffhaltigem Äthanol gelöst, unter Eiskühlung trockener Chlorwasserstoff über die Lösung geleitet, dann 50 ml abs. Äther zugesetzt und $\frac{1}{2}$ Stunde lang auf 0° gekühlt. Der weisse Niederschlag wird abgesaugt, zweimal mit abs. Äther gewaschen und sogleich im Vakuum-Exsikkator über Kaliumhydroxyd und Phosphorpentoxyd scharf getrocknet. Man erhält 390 mg elfenbeinfarbenes Kristallpulver, entsprechend 96.5 % d. Th. 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorid, Zers.P. 168-170 $^{\circ}$.

c) Darstellung des Oxazinonderivates durch Kondensation mit Oxalelessigsäure-diäthylester

50 mg 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorid werden in 1 ml abs. Alkohol gelöst und mit 0.1 ml frisch destilliertem Oxalelessigsäure-diäthylester bei 20-25° 24 Stunden lang geschüttelt. Es bilden sich gelbe Kristallnadeln. Nach Zusatz von 1 ml Benzin (Sdp. 40-60°) wurde 24 Stunden lang tiefgekühlt, das Kristallisat in der Kälte abfiltriert und zunächst mit wenig eiskaltem Äthanol/Benzin (1:1), dann mit Benzin gewaschen. Nach Umkristallisieren aus ca. 10 ml 95% Äthanol erhält man das 3-Carbäthoxymethylen-5-[3-amino-succinyl]-7-methyl-3.4-dihydro-[benz-1.4-oxazinon-(2)] (XLIII) in grüngelben Kristallnadeln, Schmp. 168-170° (Z).

C₁₇H₁₈N₂O₇ (362.3)

Ber. O 30.91

Gef. 31.04

Kondensation des 2-Amino-3-hydroxy-5-methyl-acetophenons (XLI)

2-Amino-3-hydroxy-5-methyl-acetophenon wird als Hydrochlorid oder als freie Base in wenig abs. Alkohol gelöst und mit 1.2 Äquivalenten Oxalelessigsäurediäthylester versetzt und 2 Tage lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Es kristallisiert das 3-Carbäthoxymethylen-5-acetyl-7-methyl-3.4-dihydro-[benz-1.4-oxazinon-(2)] (XLII) vom Schmp. 172-173°.

C₁₅H₁₅NO₅ (289.2)

Ber. C 62.30 H 5.23

Gef. C 62.28 H 5.38

7. Oxydation des 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenins (XX)

a) Oxydationsversuche in wässrigen Medien

α) Oxydation in Phosphatpufferlösung pH 7.1

20 mg (0.064 mMol) 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenindihydrochlorid wurden in 6 ml Phosphatpuffer pH = 7.1 gelöst und mit 1.29 ml

0.1 m Kaliumferricyanidlösung (0.129 mMol) $\frac{1}{2}$ Stunde stehen gelassen. Danach wurden 0.5 ml Eisessig dazugegeben (pH der Mischung etwa 3.5) und mit Butanol extrahiert; Eisessigzugabe und Butanolextraktion wurden viermal wiederholt. Der Butanolextrakt wurde mit Natriumsulfat getrocknet und bei 30° im Vakuum zur Trockne gebracht. Nach scharfem Trocknen im Vakuumexsikkator blieb ein orangegelbes Pulver zurück, das hygroskopisch war, sich mässig in Alkohol und schwer in chlorwasserstoffhaltigem Alkohol löste. Das UV-Spektrum zeigte einen gleichmässigen Anstieg der Absorption mit zunehmender Frequenz.

Der Ansatz wurde wiederholt. Nach Zugabe von 0.5 ml Eisessig wurde die Reaktionsmischung auf eine Perlonsäule (15 cm lang, 1 cm Ø) gegeben und mit insgesamt 100 ml 0.2 m Kaliumdihydrogenphosphatlösung (pH 4.9) eluiert. Die ersten 20 ml Eluat zeigten eine starke Berlinerblaureaktion. Die folgenden 80 ml Eluat wurden bei 35° zur Trockne gebracht, der Trockenrückstand mit 80proz. Äthanol extrahiert. Im UV zeigte sich keine charakteristische Absorption.

β) Oxydation in Bikarbonatlösung

30 mg 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorid wurden in 0.5 ml Wasser gelöst und mit 1n Natriumbikarbonatlösung aus einer Feinbürette auf pH 7.5 eingestellt. Nach 10tägigem Stehen an der Luft wurde der braune Niederschlag abgesaugt und getrocknet. Im UV zeigte sich keine charakteristische Absorption. Das braune Pulver wurde auf eine Perlonsäule gebracht (16 cm lang, 1 cm Ø) und mit Wasser eluiert. Eine grosse Menge braun gefärbten Stoffes wanderte voraus, während die oberen 3-5 cm der Säule eine geringe Menge rot-violetten Stoffes zurückhielten. Der Farbstoff liess sich weder mit mässig saurem Puffer noch mit 50proz. Methanol, 50proz. Aceton oder wassergesättigtem Butanol ablösen. Endlich wurde er mit 50proz. Dimethylformamid eluiert. Beim Eindampfen bei 40° wurde zum Abtreiben der Dimethylformamidreste zweimal etwas Wasser nachgegeben. Dabei verblasste die Farbe der Lösung. Das UV-Spektrum des Trockenrückstandes zeigte keine charakteristische Absorption.

γ) Oxydation in saurem Puffer

11 mg 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorid wurden in einem spitzen Zentrifugenglas in 0.6 ml 0.2 m Kaliumdihydrogenphosphatlösung gelöst und zum Filtrat 0.4 ml 0.2n Kaliumbichromatlösung gegeben. Dabei färbte sich die Lösung erst tief rot, dann zunehmend dunkler, bis schliesslich ein brauner Niederschlag ausflockte. Es wurde zentrifugiert, der Niederschlag zuerst mit 0.5 ml Phosphatpuffer, dann mit Wasser aufgeschlemmt, zentrifugiert, filtriert und mit etwas abs. Alkohol gewaschen. Das erhaltene grüngelbe Pulver war schwerlöslich und zeigte keine charakteristische Absorption im UV.

b) Oxydationen in abs. Alkohol

α) Oxydation mit Quecksilberoxyd

5 mg 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorid wurden in 2 ml abs. Alkohol gelöst und in einem spitzen Zentrifugenglas mit 20 mg feingepulvertem trockenem Quecksilberoxyd 10 Minuten lang bei 25° geschüttelt. Nach Zentrifugieren und Filtrieren wurde die klare gelbe Lösung mit abs. Alkohol auf 10 ml aufgefüllt und das UV-Spektrum gemessen. Danach wurde mit demselben Quecksilberoxyd 2 Stunden lang weitergeschüttelt und wieder das Spektrum gemessen. Die Farbe der Lösung war unverändert gelb. Anschliessend wurde mit frischem Quecksilberoxyd 2 Stunden lang am Rückfluss gekocht, wobei sich die Lösung rötlich verfärbte. Das UV-Spektrum (Abb. 26) wurde gemessen.

β) Oxydationen mit Bleidioxyd

Das gleiche Verfahren wurde im Parallelversuch mit Bleidioxyd als Oxydationsmittel durchgeführt. Hier zeigte sich eine Rotfärbung der Lösung bereits nach 10 Minuten Schütteln. UV-Spektren siehe Abb. 27.

21 mg 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorid wurden in 15 ml abs. Alkohol mit einer kleinen Spatelspitze Bleidioxid unter Magnetrührung am Rückflusskühler zum Sieden erhitzt. Nach 0.5 Stunden und 1.5 Stunden wurde nach Zentrifugieren je eine Probe von 0.5 ml der Lösung entnommen, mit abs. Alkohol auf 10 ml aufgefüllt und die UV-Spektren gemessen. Nach 3.5 Stunden enthielt die Reaktionslösung viel braune Schwebeteilchen. Sie wurde nach Zentrifugieren klar filtriert und eine 0.5 ml-Probe wie oben im UV gemessen. Die nach 1.5 Stunden gemessene Probe zeigte etwa gleich grosse Extinktionen bei 328, 342 und 390 m μ . Nach 3.5 Stunden war die langwellige Bande stark abgesunken, doch zeigten auch die Absorptionen bei 328 und 342 m μ Extinktionswerte, die nur noch ein Drittel der nach 1.5 Stunden gemessenen betragen.

125 mg 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorid, in 300 ml abs. Alkohol gelöst, wurden mit 1 g getrocknetem Bleidioxid 3 Stunden lang unter Magnetrührung am Rückfluss gekocht. Es wurde heiss abgesaugt und das rötlichbraune trübe Filtrat bei 25° zur Trockne gebracht. Der Trockenrückstand wurde an einer Säule aus 100 g Acidum silicicum Mallinckrodt (100 mesh), das mit 80 g abs. Methanol desaktiviert worden war, unter geringem Stickstoffdruck chromatographiert: Die Substanz wurde in Benzol aufgeschlemmt auf die Säule gegeben und zunächst mit 800 ml Benzol eluiert. Es wurden 4 Benzolfractionen A, B, C, D mit zunächst tiefgelbem, dann blassgelbem Eluat gewonnen. Während die Gelbfärbung von der Säule verschwand, setzte sich von oben eine himbeerrote Zone ab.

Mit 300 ml Benzol-Chloroform 1:1 setzte sich eine neue Gelbkomponente von oben her ab. Das Eluat war jedoch fast farblos: Fraktion E. Mit 300 ml Chloroform verteilte sich die Gelbfärbung über die Säule, löste sich jedoch nicht ab. Eluat farblos: Fraktion F.

Mit Chloroform-abs. Äthanol 10:1 gelbes Eluat, Fraktionen G, H. Weiter mit Chloroform-abs. Äthanol 5:1 anfangs blassgelbes, dann blassrötliches Eluat: Fraktionen I-N. Auf der Säule zeigten sich von oben nach unten:

Dunkelrote Bande 2.5 cm breit

grüne Bande 1 cm breit

orangerote Bande 3 cm breit.

Schliesslich lösten sich die roten Banden blassgelb von der Säule ab: Fraktionen O-P.

Die letzten Rotanteile wurden mit Chloroform-abs. Äthanol 1:1 eluiert: Fraktionen Q-T. UV-Spektren siehe Tabelle 3, S. 54. Eine Probe der Fraktion S zeigte beim Durchleiten von Luft eine deutliche Farbvertiefung.

Die Fraktionen Q, R, S, T wurden zur Trockne gebracht und vereint an 50 g Kieselgel unter den gleichen Bedingungen nochmals chromatographiert.

Die UV-Spektren der gefärbten Fraktionen wurden gemessen, vgl. Abb. 28, S. 55.

Der Oxydationsansatz wurde wie vorstehend wiederholt, jedoch nur 1 Stunde am Sieden erhalten und wie beschrieben aufgearbeitet. Bei der Chromatographie an Silicagel wurde am Schluss mit abs. Äthanol etwa die Hälfte des eingesetzten Ausgangsmaterials wiedergewonnen.

c) Oxydationen in Tetrahydrofuran

α) Oxydation mit Bleidioxyd

4 mg 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorid wurden zusammen mit 40 mg Bleidioxyd in 22 ml abs. Tetrahydrofuran (zuerst zweimal über Natrium, dann über Kalium mehrere Stunden am Rückfluss erhitzt und jeweils abdestilliert) suspendiert und bei 35° 14 Stunden lang geschüttelt. Danach wurde zentrifugiert und der schwach rötliche Überstand nach Entnahme einer Probe zur UV-Messung im Vakuum-Umlaufverdampfer bei 30° zur Trockne gebracht. Nach scharfem Trocknen im Vakuum-Exsikkator wurde das UV-Spektrum in Äthanol aufgenommen. Diskussion des Spektrums S. 55.

β) Oxydation mit Sauerstoff

11 mg 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorid wurden unter mehrstündigem Schütteln in 80 ml abs. Tetrahydrofuran gelöst. In das Filtrat wurde bei 30° 13 Stunden lang mit konz. Schwefelsäure gewaschener Sauerstoff eingeleitet. Die Lösung färbte sich orangerot, schliesslich fiel ein dunkel-rotbrauner Niederschlag aus. Er wurde abzentrifugiert, mit abs. Tetrahydrofuran und Benzin gewaschen und nach dem Trocknen das UV-Spektrum in Äthanol gemessen.

Diskussion S. 56.

Der rotbraune Farbstoff löste sich unter Gelbfärbung leicht in abs. Äthanol. In den Überstand wurde nach Entnahme einer Probe zur UV-Messung weiter Sauerstoff eingeleitet und nach 22, 35 und 45 Stunden weitere Proben spektroskopiert. Dann wurde zentrifugiert und das Filtrat zur Trockne gebracht. Der dunkelbraune, schmierige Rückstand zeigte keine charakteristische Absorption.

γ) Oxydation mit Bleidioxid bei Zimmertemperatur

19 mg 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorid wurden durch längeres Schütteln in 70 ml abs. Tetrahydrofuran gelöst. Das Filtrat wurde mit ca. 100 mg Bleidioxid unter Feuchtigkeitsausschluss 60 Stunden lang bei 25° magnetisch gerührt. Nach 30 Stunden wurde frisches Bleidioxid zugesetzt. Nach beendeter Reaktion wurde zentrifugiert und das orangerote, klare Filtrat des Überstandes bei 25-35° zur Trockne gebracht. Die letzten Anteile des Lösungsmittels waren verhältnismässig schwer flüchtig (Peroxyde?).

Mit der vollständigen Trocknung im Vakuum-Exsikkator über Phosphorpentoxid und Kaliumhydroxyd verschwand die tiefrote Farbe, der Rückstand war ockergelb bis braun, Ausbeute 7 mg.

Der Rückstand löste sich nur zum geringen Teil mit brauner Färbung in einer Menge Tetrahydrofuran, die das Ganze vorher rot gelöst hatte. In abs. Alkohol und in Wasser war die Substanz nur sehr langsam löslich, Farbe gelb bis braun.

In eine Probe der tiefroten Tetrahydrofuranlösung des Ansatzes wurde Schwefeldioxyd eingeleitet. Sie färbte sich dabei gelb.

Je eine Probe der roten Tetrahydrofuranlösung (1 + 4 mit Tetrahydrofuran verdünnt), des Trockenrückstandes in Tetrahydrofuran sowie des Trockenrückstandes in abs. Alkohol wurden im UV spektroskopiert. Die UV-Spektren in Tetrahydrofuran sind von denen in abs. Alkohol sehr verschieden (Abb. 29).

Die in Tetrahydrofuran gemessene Probe des Trockenrückstandes wurde vom Lösungsmittel befreit und in abs. Alkohol erneut spektroskopiert. Die Absorptionskurve ist mit der des sogleich in Alkohol gemessenen Trockenrückstandes identisch (Abb. 30).

Eine Probe des Trockenrückstandes wurde im System Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5 an Schleicher und Schüll-Papier Nr. 2043 b absteigend chromatographiert. Es wurden ein gelber Fleck mit R_f 0.77 und ein blass rötlichgelber Fleck mit R_f 0.82 beobachtet. Das zum Vergleich mitgelaufene 3-Hydroxy-5-methyl-kynurenin-dihydrochlorid zeigte gelbe Flecke mit R_f 0.41 und R_f 0.48.

Anmerkung: Die IR-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer IR-Spektrophotometer Modell 21 gemessen. Für die Aufnahmen danke ich Fräulein I. Köhler.

Die UV-Spektren wurden teils mit einem Zeiss Spektralphotometer PMQ II gemessen, teils mit einem Beckmann Spektrophotometer DK 2. Für die Aufnahmen danke ich Fräulein G. Schild.

Die Mikroanalysen wurden in den Laboratorien Alfred Bernhardt, Mühlheim, und Dr. A. Schoeller, Kronach, ausgeführt.

Lebenslauf

Am 16. Mai 1924 wurde ich in Wuppertal-Elberfeld als Sohn des Industriekaufmanns Kurt Köhrmann und seiner Ehefrau Elsa geb. Ulmann geboren. 1932 wurde mein Vater Prokurist, später Betriebsleiter der Para-Gummi-bandwerke in Danzig.

Nach den üblichen vier Jahren Grundschule 1930-1934 besuchte ich die Oberrealschule 1934-1942 in Danzig-Langfuhr. Reifeprüfung 1942.

Anschliessend wurde ich zur Luftwaffe einberufen und als Flugzeugführer und Funktechniker ausgebildet. Nach drei Jahren Militärdienst 1942-1945 geriet ich in amerikanische Gefangenschaft.

Darauf folgte die Pharmazeutische Ausbildung. 1945 bis 1946 war ich Laborant, anschliessend bis 1949 Praktikant in der Stadtapotheke zu Gien-gen/Brenz (H. Goppelt) und in der Schlossapothek zu Heidenheim/Brenz (Dr. H. Gubitz), beide in Württemberg. Pharmazeutisches Vor-examen 1949.

Nach einjähriger Assistentenzeit in Heidenheim folgte mein Studium der Pharmazie 1950-1953 in Tübingen bei Professor Dr. W. Hüchel. Pharmazeutisches Staatsexamen 1953.

Anschliessend studierte ich in Tübingen Chemie 1953-1957 bei Professor Dr. G. Wittig bis zur mündlichen Diplomprüfung. Nach Ableisten der vorgeschriebenen praktischen Tätigkeit erhielt ich 1957 die Bestallung als Apotheker.

1957-1958 arbeitete ich unter Leitung von Professor Dr. A. Butenandt am Max-Planck-Institut für Biochemie in München an meiner Diplomarbeit. Während dieses Jahres war ich Kursassistent am physiologisch-chemischen Institut der Universität München.

Im April 1958 erhielt ich das Chemische Diplom.
Daran schloss sich die vorliegende Dissertation.

1956 heiratete ich Fräulein Christa Thomä aus Stuttgart.

1958 wurde meine Tochter Antje geboren.

1960 kam mein Sohn Uwe zur Welt.

